

**PENGARUH POLIETILEN GLIKOL (PEG) DALAM ANALISIS
FENILPIRUVAT PADA URIN MENGGUNAKAN PLAT SILIKA
TERIMMOBILISASI FERRI AMONIUM SULFAT**

SKRIPSI

Oleh:
INDRAYATI
NIM. 11630047



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015**

**PENGARUH POLIETILEN GLIKOL (PEG) DALAM ANALISIS
FENILPIRUVAT PADA URIN MENGGUNAKAN PLAT SILIKA
TERIMMOBILISASI FERRI AMONIUM SULFAT**

SKRIPSI

**Oleh:
INDRAYATI
NIM. 11630047**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015**

**PENGARUH POLIETILEN GLIKOL (PEG) DALAM ANALISIS
FENILPIRUVAT PADA URIN MENGGUNAKAN PLAT SILIKA
TERIMMOBILISASI FERRI AMONIUM SULFAT**

SKRIPSI

**Oleh:
INDRAYATI
NIM.11630047**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 03 November 2015**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Diana Candra Dewi, M.Si
NIP.19770720 200312 2 001**

**Akyunul Jannah, S.Si M.P
NIP.19750410 200501 2 009**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia**

**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

**PENGARUH POLIETILEN GLIKOL (PEG) DALAM ANALISIS
FENILPIRUVAT PADA URIN MENGGUNAKAN PLAT SILIKA
TERIMMOBILISASI FERRI AMONIUM SULFAT**

SKRIPSI

Oleh :
INDRAYATI
NIM.11630047

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 03 November 2015**

**Penguji Utama : A. Ghanaim Fasya, M.Si (.....)
NIP. 19820616 200604 1 002**

**Ketua Penguji : dr. Ana Rahmawati (.....)
NIP. 19741203 200912 2 001**

**Sekretaris Penguji : Diana Candra Dewi, M.Si (.....)
NIP. 19770720 200312 2 001**

**Anggota Penguji : Akyunul Jannah, S.Si M.P (.....)
NIP. 19750410 200501 2 009**

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia**

**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

SURAT PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Indrayati

NIM : 11630047

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Pengaruh Polietilen glikol (PEG) Dalam Analisis Fenilpiruvat Pada Urin Menggunakan Plat Silika Terimmobilisasi Ferri Amonium Sulfat

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 04 November 2015
Yang Membuat Pernyataan,

Indrayati
NIM.11630047

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur atas kehadiran Allah Swt., dengan limpahan rahmat dan hidayahNya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat dan salam semoga tetap terlimpahkan atas Nabi Muhammad Saw., nabi akhir zaman, penegak kebenaran dan pembawa rahmat untuk umatnya.

Penyusunan skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, tidak berlebihan pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih atas kesempatan dan kepercayaan yang telah diberikan. Ucapan terima kasih penulis ditujukan kepada:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Abdul Aziz dan Ibu Hamimah, beserta keluarga besar penulis yang selalu ikhlas dan tulus mendoakan di rumah.
2. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Elok Kamilah Hayati, M. Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Diana Candra Dewi, M.Si. selaku dosen pembimbing skripsi, dr. Ana Rahmawati selaku konsultan dan Akyunul Jannah, M.P selaku pembimbing agama, yang telah banyak memberikan pengarahan, motivasi dan pengalaman yang sangat berharga.
7. Bapak A.Ghanaim Fasya M.Si selaku penguji utama dalam ujian skripsi ini.

8. Segenap sivitas akademika Jurusan Kimia, terutama seluruh dosen, terimakasih atas semua ilmu dan bimbingannya.
9. Teman-teman satu tim sensor kimia (Husna, Bahru, Ima, Hanim, Iqbal).
10. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca pada umumnya. *Amiin ya Rabbal Alamiin.*

Malang,

Penulis



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Reaksi Fenilalanin menjadi Tirosin.....	10
Gambar 2.2 Reaksi Fenilalanin menjadi Fenilpiruvat.....	10
Gambar 2.3 Struktur Polietilen Glikol	24
Gambar 2.4 Diagram Sederhana Spektrofotometer UV-Vis.....	30
Gambar 4.1 Spektra UV-Vis Kompleks Fe-fenilpiruvat.....	45
Gambar 4.2 Grafik Penentuan Waktu Kestabilan Pembentukan Kompleks.....	47
Gambar 4.3 Grafik Penentuan Konsentrasi Terbaik Ferri Amonium Sulfat.....	49
Gambar 4.4 Grafik Penentuan Konsentrasi Terbaik Polietilen Glikol.....	51



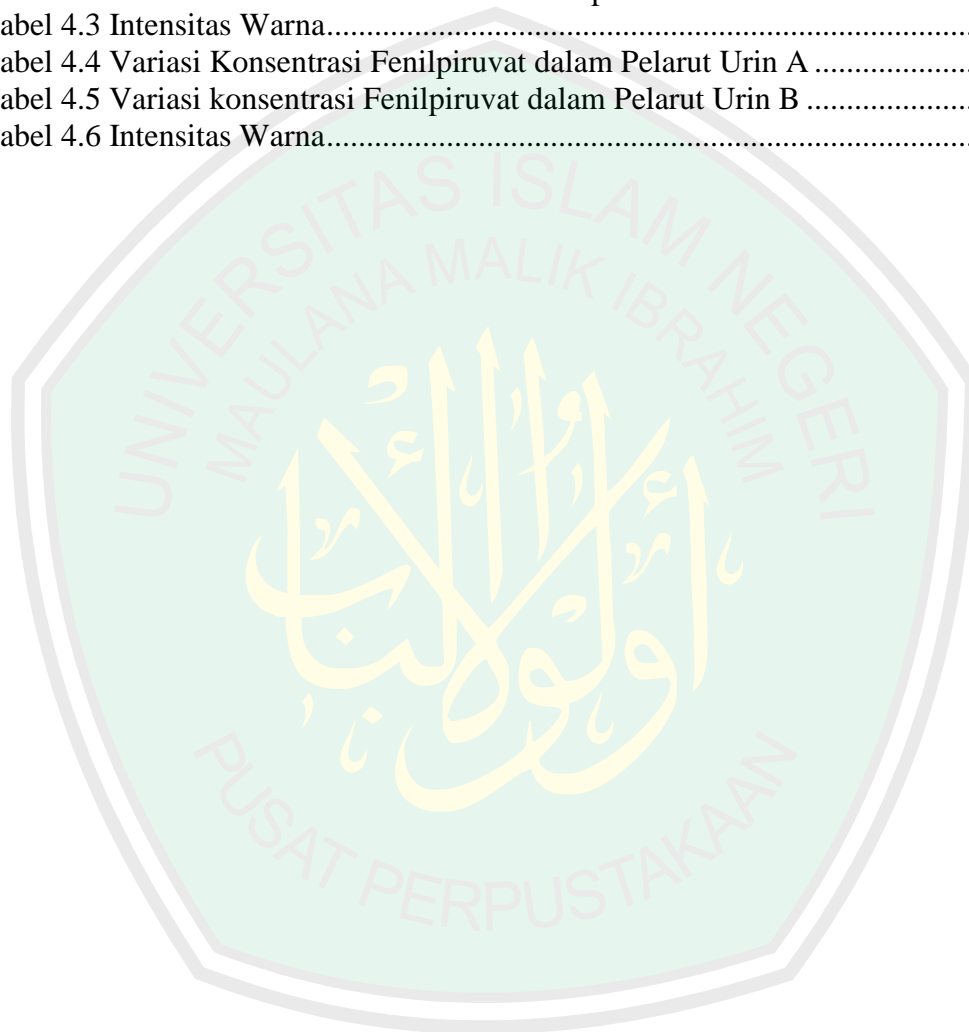
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir	76
Lampiran 2 Perhitungan Pembuatan Bahan.....	81
Lampiran 3 Spektrum Panjang Gelombang Optimum	85
Lampiran 4 Hasil Penentuan Waktu Kestabilan Pembentukan Kompleks.....	86
Lampiran 5 Hasil Penentuan Konsentrasi Terbaik FAS dan PEG.....	87
Lampiran 6 Uji Statistika Pengaruh Polietilen Glikol terhadap Fe-fenilpiruvat .	88
Lampiran 7 Dokumentasi.....	91



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hubungan Warna dengan Panjang Gelombang Sinar Tampak.....	31
Tabel 4.1 Immobilisasi Plat Silika dengan Reagen Identifikasi Terbaik	54
Tabel 4.2 Penentuan Konsentrasi Terkecil Fenilpiruvat dalam Pelarut air.....	55
Tabel 4.3 Intensitas Warna.....	57
Tabel 4.4 Variasi Konsentrasi Fenilpiruvat dalam Pelarut Urin A	59
Tabel 4.5 Variasi konsentrasi Fenilpiruvat dalam Pelarut Urin B	62
Tabel 4.6 Intensitas Warna.....	64



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Batasan Masalah.....	8
1.5 Manfaat penelitian.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Phenylketonuria</i> (PKU).....	9
2.2 Metode Deteksi <i>Phenylketonuria</i>	14
2.3 Urin	19
2.4 Polietilen Glikol	23
2.5 Larutan Buffer	24
2.6 Asam Fenilpiruvat.....	25
2.7 Immobilisasi.....	26
2.8 Adsorpsi	27
2.9 Plat Silika	39
2.10 Spektrofotometer UV-Vis	30
2.11 Penyakit Dalam Persepektif Islam	31
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Pelaksanaan Penelitian	35
3.2 Alat dan Bahan	35
3.3 Tahapan Penelitian	35
3.4 Langkah Kerja.....	36
3.4.1 Preparasi Bahan	36
3.4.1.1 Pembuatan Larutan Natrium Fenilpiruvat	36
3.4.1.2 Pembuatan Reagen Identifikasi Fenilpiruvat	36

3.4.2 Penentuan Kondisi Optimum Reaksi Fenilpiruvat dengan Ion Ferri Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	37
3.4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimum Kompleks Fe-fenilpiruvat	37
3.4.3.2 Penentuan Waktu Kestabilan Kompleks Fe-fenilpiruvat	38
3.4.3.3 Penentuan Konsentrasi Terbaik Reagen Ferri Amonium Sulfat dengan Fenilpiruvat	38
3.4.3.4 Penentuan Konsentrasi Terbaik Reagen Polietilen Glikol dengan Fenilpiruvat	39
3.4.3 Immobilisasi Reagen Ferri Amonium Sulfat, Polietilen Glikol dan Larutan Buffer KCl-HCl pada Plat Silika	39
3.4.4 Penentuan Konsentrasi Terkecil Fenilpiruvat yang Dapat Terdeteksi Pada Plat Silika Terimmobilisasi Reagen Identifikasi	40
3.4.5 Pengujian Plat Silika Terimmobilisasi Terhadap Sampel	40
3.4.5.1 Preparasi Sampel.....	40
3.4.5.2 Pengujian Sampel Pada Plat Silika	41
3.4.6 Analisis Data	41

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Bahan.....	42
4.2 Penentuan Kondisi Optimum.....	44
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimum Kompleks Fe-fenilpiruvat (Fe-PP ₃).....	44
4.2.2 Penentuan Waktu Kestabilan Kompleks Fe-fenilpiruvat	47
4.3 Penentuan Konsentrasi Terbaik Reagen Identifikasi Fenilpiruvat	48
4.3.1 Penentuan Konsentrasi Terbaik Reagen Ferri Amonium Sulfat yang Bereaksi dengan Fenilpiruvat	48
4.3.2 Penentuan Konsentrasi Terbaik Reagen Polietilen Glikol yang Bereaksi dengan Kompleks Fe-fenilpiruvat.....	51
4.4 Immobilisasi Reagen Ferri Amonium Sulfat, Polietilen Glikol dan Larutan Buffer KCl-HCl pada Plat Silika	53
4.5 Penentuan Konsentrasi Terkecil yang Dapat Terdeteksi Pada Plat Silika Terimmobilisasi Reagen Identifikasi	54
4.6 Pengujian Plat Silika Terimmobilisasi terhadap Sampel Urin	58
4.6.1 Preparasi Sampel	58
4.6.2 Penentuan Konsentrasi Terkecil Fenilpiruvat dalam Pelarut Urin yang Dapat Terdeteksi Pada Plat Silika Terimmobilisasi.....	59
4.7 Pandangan Islam Tentang Penelitian Pengaruh Polietilen glikol Terhadap Identifikasi Fenilpiruvat dalam Urin	65

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	70
5.2 Saran.....	71

DAFTAR PUSTAKA 72
LAMPIRAN



ABSTRACT

Indrayati. 2015. The Effect of Polyethylene Glikol For Phenylpiruvat Analysis of the Urine Using a Silica Plate Mobilized Ferric Ammonium Sulphate. Thesis. Chemistry Major of Science and Technology Faculty, Islamic State University Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Diana Candra Dewi, M.Si., Supervisor II: Akyunul Jannah, S.Si M.P., Consultant: dr. Ana Rahmawati

Key words: phenylketonuria, polyethylene glycol, phenylpyruvate, FeCl_3 , urine

Phenylketonuria is a genetic disease caused by deficiencies or inexistence phenylalanine hidroxylyase enzyme (PAH) which has function in changing phenylalanine amino acid into tyrosine. The high concentration of phenylalanine in body will be converted into phenylpyruvic acid and released through urine. The purpose of this research was to know the effect of polyethylene glycol solution for phenylpiruvat analysis in complex Fe-phenylpiruvat of the urine.

This research consists of sample preparation, materials preparation, determination the best concentration of ferric ammonium sulphate ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) and polyethylene glycol (PEG) reagents, immobilizes $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, polyethylene glycol (PEG) and KCl-HCl buffer into silica gel plate to identify phenylpyruvate, determination of smallest concentration of phenylpyruvate in water and healthy baby urine solvents with immobilized silica gel plate by phenylpyruvate identified reagent method and data analyze.

The result of this research shows polyethylene glycol (PEG) affects the complex in the presence of Fe-phenylpiruvat green on silica gel plate at a concentration of 500 ppm. Phenylpiruvat identification results using silica plate immobilized give a clear stable green color when dropped sodium phenylpiruvat 500 ppm, the green color lasts for approximately 30 minutes. The concentration phenylpyruvate in patients of PKU is 300 - 2000 ppm in urine. The smallest concentration of phenylpyruvate in water and healthy baby urine solvents which able to detected show the same result is 75 ppm.

ABSTRAK

Indrayati. 2015. Pengaruh Polietilen Glikol (PEG) Dalam Analisis Fenilpiruvat Pada Urin Menggunakan Plat Silika Terimmobilisasi Ferri Amonium Sulfat. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Diana Candra Dewi, M.Si., Pembimbing II: Akyunul Jannah, S.Si M.P., Konsultan: dr. Ana Rahmawati

Kata kunci: *phenylketonuria*, polietilen glikol, fenilpiruvat, ferri amonium sulfat, urin

Phenylketonuria ialah suatu penyakit genetik yang dikenali dengan kurangnya atau bahkan tidak adanya enzim phenylalanin hidroksilase (PAH) yang merubah asam amino fenilalanin menjadi tirosin. Kadar fenilalanin yang tinggi pada tubuh akan dikonversi menjadi asam fenilpiruvat dan dikeluarkan lewat urin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh dari larutan polietilen glikol dalam analisis fenilpiruvat terhadap kompleks Fe-fenilpiruvat pada urin.

Penelitian ini meliputi preparasi sampel, preparasi bahan, penentuan panjang gelombang optimum kompleks Fe-fenilpiruvat, penentuan jumlah konsentrasi terbaik reagen Ferri Amonium Sulfat ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) dan polietilen glikol (PEG), immobilisasi reagen $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, polietilen glikol (PEG) dan larutan buffer KCl-HCl pada plat silika gel untuk identifikasi fenilpiruvat, penentuan konsentrasi terkecil fenilpiruvat pada pelarut air dan urin bayi sehat dengan metode plat silika gel terimmobilisasi reagen identifikasi fenilpiruvat dan analisis data.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa polietilen glikol (PEG) berpengaruh terhadap kompleks Fe-fenilpiruvat yang berwarna hijau pada plat silika gel dan diperoleh konsentrasi optimum yaitu 500 ppm, sedangkan konsentrasi optimum ferri amonium sulfat yaitu 5000 ppm. Hasil identifikasi fenilpiruvat menggunakan plat silika terimmobil reagen identifikasi terbaik ditunjukkan oleh warna hijau yang jelas dan stabil cukup lama ketika ditetesi natrium fenilpiruvat 500 ppm, warna bertahan selama kurang lebih 30 menit. Kadar asam fenilpiruvat pada penderita PKU yaitu 300 – 2000 ppm dalam urin. Konsentrasi terkecil fenilpiruvat pada pelarut air dan urin bayi sehat yang dapat dideteksi pada penelitian ini menggunakan plat silika gel terimmobil reagen identifikasi fenilpiruvat menunjukkan hasil yang sama yaitu 75 ppm.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Manusia hidup di dunia ini tidak akan pernah lepas dari ujian dan cobaan sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al Baqarah ayat 155:

وَلَنَبْلُوَنَّكُمْ بِشَيْءٍ مِّنَ الْخَوْفِ وَالْجُوعِ وَنَقْصٍ مِّنَ الْأَمْوَالِ وَالْأَنْفُسِ وَالثَّمَرَاتِ
وَدَشِيرِ الصَّابِرِينَ ﴿١٥٥﴾

Artinya: dan sungguh akan Kami berikan cobaan kepadamu, dengan sedikit ketakutan, kelaparan, kekurangan harta, jiwa dan buah-buahan. dan berikanlah berita gembira kepada orang-orang yang sabar (Q.S al Baqarah :155).

Sesungguhnya dunia adalah ‘darul-bala’ (tempat ujian). Siapa yang tidak mendapat ujian atau musibah dalam hartanya, akan diuji jasadnya. Siapa yang tidak diuji jasadnya akan diuji anak-anaknya. Maka sudah merupakan sunnatullah bahwa setiap insan pastilah akan mendapatkan ujian dan cobaan baik berupa keburukan atau kebaikan. Abdul Malik bin Abhar berkata, “Tidak ada seorang manusia pun, melainkan akan diuji dengan kesehatan untuk melihat apakah ia mensyukurinya. Atau diuji dengan musibah untuk melihat apakah ia bersabar atasnya”.

Setelah yakin bahwa manusia tidak akan terhindar dari ditimpanya cobaan atau ujian, maka kita harus siapkan diri untuk bisa bersikap sabar jika mendapati setiap ujian. Apabila ujian itu berupa kebaikan maka kita harus senantiasa bersyukur, sedangkan apabila ujian itu berupa keburukan maka kita harus selalu

sabar dan mencari solusinya. Karena setiap ujian yang Allah SWT berikan kepada kita pasti ada jalan keluar untuk mengatasi ujian tersebut.

Salah satu bentuk ujian dari Allah dapat berupa penyakit yang disebabkan oleh kelainan metabolisme asam amino. Misalnya penyakit *Phenylketonuria*, penyakit ini salah satu jenis penyakit yang disebabkan oleh kelainan metabolisme asam amino. Metabolisme merupakan kegiatan terpenting dalam tubuh, metabolisme terjadi pada saat menit pertama makanan masuk ke perut dan pencernaan dimulai (Aryani, 2013). Namun ada saatnya proses metabolisme menjadi terganggu, gangguan metabolisme bisa saja terjadi karena kelainan genetik atau penyakit. Bila gangguan metabolisme terjadi, maka fungsi normal tubuh juga akan terganggu dan menyebabkan masalah kesehatan. Yang paling berpengaruh bisa atau tidak bisaan tubuh ialah disebabkan oleh kelainan tidak memiliki suatu enzim yang diperlukan untuk membantu metabolisme. Kelainan metabolisme seringkali disebabkan oleh kelainan genetik yang mengakibatkan hilangnya enzim tertentu yang diperlukan untuk merangsang suatu proses metabolisme. Kelainan metabolisme dibedakan menjadi beberapa macam berdasarkan zat yang mengalami kegagalan dalam metabolisme diantaranya kelainan metabolisme lemak, protein, karbohidrat, piruvat dan asam amino (Aryani, 2013).

Kesalahan metabolisme bawaan yang paling sering dikenal berasal dari ketidaknormalan atau ketidakadaan protein yang menolong fungsi enzimatik. Kelainan genetik yang mengakibatkan hilangnya enzim tertentu yang diperlukan untuk merangsang suatu proses metabolisme merupakan penyimpangan dari sifat umum atau sifat rata-rata manusia, serta merupakan penyakit yang muncul karena

tidak berfungsinya faktor-faktor genetik yang mengatur struktur dan fungsi fisiologi tubuh manusia (Harris,1994).

Asam amino merupakan senyawa komponen pembentuk protein. Penyakit keturunan pada pengolahan asam amino dapat menyebabkan gangguan pada penguraian asam amino maupun pemindahan asam amino ke dalam sel. Penyakit *phenylketonuria* yang disebabkan oleh kelainan metabolisme asam amino ini bersifat genetik autosom resesif. *Phenylketonuria* merupakan penyakit dimana penderita tidak dapat memetabolisme fenilalanin secara baik karena tubuh tidak mempunyai enzim yang mengoksidasi fenilalanin menjadi tirosin dan bisa terjadi kerusakan pada otak anak. Oleh karena itu, orang tersebut perlu mengontrol asupan fenilalanin ke dalam tubuhnya. Fenilalanin adalah salah satu dari sembilan asam amino esensial yang terdapat pada semua protein makanan seperti daging, telur, ikan, susu, keju dan dalam jumlah yang sedikit pada sereal, sayuran dan buah-buahan.

PKU merupakan penyakit yang disebabkan oleh defisiensi atau tidak adanya enzim fenilalanin hidroksilase (PAH) dalam hati. Menurut Ramadevi (2013) *Phenylketonuria* disebabkan oleh adanya gangguan autosomal dimana metabolisme terhambat ditandai dengan mutasi pada gen untuk enzim fenilalanin hidroksilase (PAH). Enzim ini dibutuhkan untuk mengkonversi fenilalanin menjadi tirosin. Tidak adanya enzim fenilalanin hidroksilase, fenilalanin akan berakumulasi dalam darah dan jaringan. Pada bayi dan anak-anak keadaan ini mempunyai pengaruh yang serius terhadap fungsi otak. Dikarenakan sel saraf otak bersifat sangat sensitif terhadap kadar fenilalanin, maka jumlah yang berlebihan dari substansi ini dapat menyebabkan kerusakan otak. Apabila masalah ini

diketahui dengan cepat, bayi dan anak-anak dapat terpelihara secara normal dengan pemberian diet yang sangat rendah kandungan fenilalaninnya. Oleh sebab itu, deteksi dini adanya gejala *phenylketonuria* sangat diperlukan guna mencegah kerusakan otak pada bayi dan anak-anak sehingga retardasi otak dapat dihambat dengan optimal (Veneziano, 2008).

Deteksi *Phenylketonuria* (PKU) telah banyak dikembangkan melalui uji serum darah menggunakan metode HPLC, GCMS dan *micro assay* seperti Guthrie Test. Menurut Lee (2006), penentuan fenilalanin pada serum darah manusia menggunakan *Isotope Dilution Liquid Chromatography/ Tandem Mass Spectrometry* (ID-LC/MS/MS) memberikan hasil yang cukup baik dengan tingkat kepercayaan 95 % dan simpangan baku 1,2 %. Lemanska (2002), melakukan penelitian tentang pengukuran konsentrasi fenilalanin dalam serum darah dengan metode fluorometri dan konsentrasi fenilalanin darah dalam *filter paper* dengan metode kolorimetri enzimatis menunjukkan hasil yang komperatif. Dari pengukuran fenilalanin dalam serum darah dengan metode fluorometri diperoleh range konsentrasi 2 – 6 mg/dL untuk anak yang berusia < 12 tahun dan untuk pasien lebih tua <10 mg/dl. Sedangkan pengukuran fenilalanin dalam darah dalam *filter paper* dengan kolorimetri enzimatis diperoleh range konsentrasi 4 – 10 mg/dL. Menurut Lee H (2005), metode yang digunakan untuk deteksi penyakit phenylketonuria adalah *Isotope Dillution Liquid Chromatography/tandem mass Spectrometry* (ID-LC/MS/MS) yang dikembangkan sebagai metode untuk penentuan kadar fenilalanin serum darah manusia. Hasil analisis sampel serum darah dengan metode dengan (ID-LC/MS/MS) dibandingkan dengan metode klinis yang biasa dilakukan Laboratorium Klinis dengan HPLC. Metode (ID-

LC/MS/MS) menunjukkan kestabilan dan kekonsistenan ketika diuji beberapa kali dengan berbagai sampel dibandingkan dengan HPLC.

Metode pemeriksaan *phenylketonuria* pada sampel urin masih terbatas. Metode yang sudah dilakukan adalah menggunakan metode kolorimetri dengan larutan FeCl_3 , *Phenistix*, 2,4-dinitrophenylhidrazine, metode filter paper dan metode kromatografi kertas. Menurut Rupe dan Free (1959) yang melakukan tes untuk penyakit *phenylketonuria* pada sampel urin menyatakan pada tes 8 mg fenilpiruvat per 100 mL dari urin memberikan reaksi positif dengan *phenistix* 82 %, sedangkan tes larutan FeCl_3 memberikan reaksi positif hanya 62 %. Jika konsentrasi fenilpiruvat 15 mg per 100 mL dari urin memberikan reaksi positif dengan tes strip 99,5 %. Larutan FeCl_3 memberikan hasil kurang sensitif yaitu memberikan warna hijau dengan asam *p*-hidroksifenilpiruvat selain asam fenilpiruvat.

Menurut Fitriani (2013), metode penentuan fenilpiruvat dalam urin dapat menggunakan plat silika gel yang telah terimmobilisasi reagen ion ferri. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa immobilisasi terbaik reagen identifikasi fenilpiruvat dalam plat silika gel yaitu dilakukan perendaman selama 30 menit. Sedangkan untuk mengeringkannya dengan dioven pada suhu 35 °C dibutuhkan waktu selama 10 menit. Dari penelitian tersebut juga dapat diketahui konsentrasi terkecil natrium fenilpiruvat yang dapat dideteksi yaitu natrium fenilpiruvat pada konsentrasi 0,5 mmol/L.

Menurut Nofemmy (2014), larutan buffer KCl-HCl berpengaruh terhadap kompleks FeCl_3 dan fenilpiruvat yang menyebabkan perubahan warna yaitu berwarna hijau pada plat silika gel. Larutan buffer CH_3COONa -HCl yang

digunakan pada penelitian Fitriani (2013), bersifat volatil maka dari itu diganti dengan larutan buffer KCl-HCl yang tidak volatil untuk memperoleh hasil yang maksimal. Hasil maksimal yang dimaksud adalah warna yang dihasilkan akan lebih tajam dan tahan lebih lama dibandingkan dengan buffer $\text{CH}_3\text{COONa-HCl}$. Volatilitas ini ditunjukkan dengan titik didih yang rendah pada senyawa kovalen sehingga pada suhu kamar sudah menguap dalam jumlah yang banyak. Buffer yang bersifat volatil akan berpengaruh terhadap pembentukan kompleks Fe-fenilpiruvat yaitu warna yang dihasilkan cepat memudar atau menghilang. Kompleks Fe-fenilpiruvat bekerja di pH asam, maka dari itu digunakan buffer KCl-HCl yang tetap berada di pH asam dan diharapkan bisa memberikan hasil yang maksimal yaitu dengan warna dihasilkan pada kompleks Fe-fenilpiruvat.

Menurut Nofemmy (2014) EDTA juga berpengaruh terhadap pembentukan kompleks FeCl_3 dan fenilpiruvat yang berwarna hijau pada plat silika gel dan diperoleh konsentrasi optimum 1mM. Hasil identifikasi fenilpiruvat menggunakan plat silika terimmobil reagen identifikasi terbaik ditunjukkan oleh warna hijau yang jelas dan stabil cukup lama ketika ditetesi natrium fenilpiruvat 5 mmol/L. Konsentrasi terkecil fenilpiruvat pada pelarut air dan urine bayi sehat yang dapat terdeteksi dengan metode plat silika gel terimmobil reagen identifikasi fenilpiruvat menunjukkan hasil yang sama yaitu natrium fenilpiruvat 0,5 mmol/L. Selain EDTA polietilen glikol juga berpengaruh terhadap pembentukan kompleks dengan ion logam. Menurut Setianingrum (2011), Polietilen glikol (PEG) merupakan polieter asiklik yang mengandung gugus alkohol (OH) pada kedua ujungnya. Walaupun gugus OH bukan atom yang stabil tetapi gugus ini mampu

membentuk ikatan koordinatan dengan ion logam dan menghasilkan kompleks yang stabil.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dalam hal deteksi dini yang murah dan mudah sehingga kita dapat melakukan pencegahan terhadap penyakit PKU yang menyebabkan otak kita tidak dapat berfungsi dengan baik.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana kondisi optimum reagen pada pembentukan kompleks Fe-Fenilpiruvat?
2. Bagaimana pengaruh polietilen glikol (PEG) dalam menstabilkan kompleks Fe-Fenilpiruvat?
3. Berapa konsentrasi terkecil natrium fenilpiruvat yang dapat terdeteksi dalam plat silika terimmobilisasi ferri amonium sulfat?
4. Bagaimana hasil uji kualitatif natrium fenilpiruvat dalam urin menggunakan plat silika terimmobilisasi ferri amonium sulfat?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kondisi optimum reagen dalam pembentukan kompleks Fe-Fenilpiruvat menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
2. Mengetahui pengaruh polietilen glikol (PEG) dalam menstabilkan kompleks Fe-Fenilpiruvat.
3. Mengetahui konsentrasi terkecil natrium fenilpiruvat yang dapat terdeteksi dalam plat silika terimmobilisasi ferri amonium sulfat.
4. Mengetahui hasil uji kualitatif natrium fenilpiruvat dalam urin menggunakan plat silika terimmobilisasi ferri amonium sulfat.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel urin yang digunakan adalah sampel urin bayi sehat laki-laki dan perempuan masing-masing satu orang yang berusia 0 tahun sampai 5 tahun.
2. Sampel urin yang digunakan adalah sampel urin pagi. Pengambilan sampel urin dilakukan pada jam 6 sampai jam 9 pagi.
3. Menentukan kondisi optimum yaitu panjang gelombang dan waktu kestabilan kompleks Fe-Fenilpiruvat.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan pengetahuan tentang analisis fenilpiruvat dalam urin.
2. Memberikan pengetahuan kepada masyarakat tentang gejala dan pencegahan dini terhadap penyakit phenylketonuria (PKU) yang efektif serta tidak membutuhkan biaya yang mahal.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

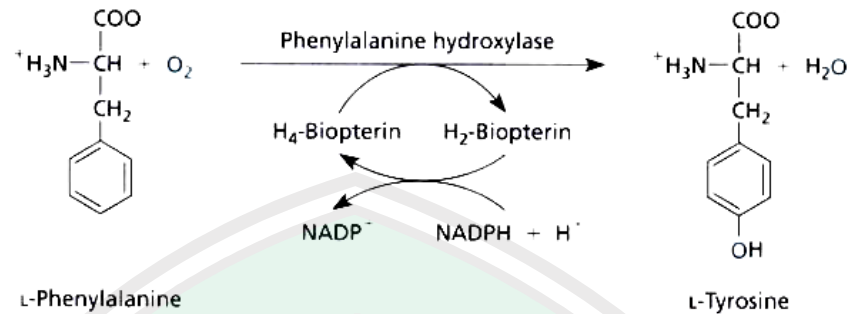
2.1 *Phenylketonuria* (PKU)

Phenylketonuria adalah suatu penyakit keturunan yang disebabkan karena orang tidak mampu merubah asam amino fenilalanin menjadi tirosin. *Phenylketonuria* merupakan kelainan bawaan pada proses metabolisme yang menyebabkan keterbelakangan mental. Pengaruh terhadap cara tubuh memproses makanan: anak-anak tidak dapat memproses komponen protein (asam amino) yang disebut fenilalanin karena kurangnya enzim yang sesuai. Akibatnya, fenilalanin terakumulasi dalam darah dan menyebabkan kerusakan otak dan keterbelakangan mental (Aryani, 2013).

PKU disebabkan oleh mutasi gen pada kromosom 12. Kode gen untuk protein yang disebut PAH (fenilalanin hidroksilase), suatu enzim di hati. Enzim ini memecah asam amino fenilalanin menjadi asam amino tirosin yang dibutuhkan tubuh. Ketika gen ini bermutasi, enzim PAH tidak dapat berfungsi dengan baik sehingga fenilalanin tidak dapat diubah menjadi asam amino tirosin. Fenilalanin menumpuk dalam darah dan sel-sel saraf (neuron) di otak (Evelyn, 1973).

Gejala yang timbul adalah anak-anak tampak normal awal. Kemudian mulai kehilangan minat di sekelilingnya dan memiliki keterbelakangan mental, yang membuat mereka mudah tersinggung, gelisah dan merusak. Kejang-kejang mungkin terjadi. Kulit kering, ruam kulit dan berbau seperti jamur. Mereka memiliki rambut pirang dan tumbuh dengan baik (Aryani, 2013).

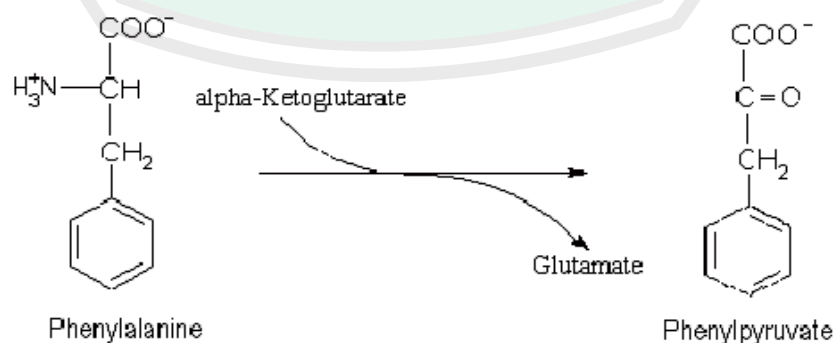
Berikut reaksi fenilalanin menjadi asam amino tirosin jika enzim fenilalanin hidroksilase tersedia di dalam tubuh :



Gambar 2.1 Reaksi fenilalanin menjadi asam amino tirosin

Fenilalanin diambil dari protein makanan dan sangat penting bagi tubuh orang, karena menjadi bahan untuk mensintesa protein, tirosin dan pigmen melanin. Di atas tingkat normal fenilalanin beracun bagi sel-sel yang membentuk sistem saraf dan menyebabkan kelainan permanen pada struktur otak. Fenilalanin adalah jenis teratogen. Teratogen merupakan zat atau suatu organisme yang dapat menyebabkan cacat lahir pada janin yang sedang berkembang (Evelyn, 1973). Karena banyaknya fenilalanin yang tertimbun maka sebagian fenilalanin itu diubah menjadi asam fenilpiruvat.

Reaksi fenilalanin menjadi asam fenilpiruvat :



Gambar 2.2 Reaksi fenilalanin menjadi senyawa fenilpiruvat

PKU adalah suatu kondisi pada seseorang yang disebabkan oleh kelainan genetik dan ditandai retardasi (kemunduran) mental. PKU karena adanya gangguan metabolisme phenylalanin (biasanya terdapat pada daging). Secara normal phenylalanin digunakan untuk sintesis protein, sedangkan kelebihanannya diubah oleh hati menjadi tirosin atau fenilpiruvat. Pada bayi penderita PKU yang baru lahir dijumpai kekurangan (tidak memiliki) enzim untuk mengubah phenylalanin menjadi tirosin (Kaufman, 1975), walaupun masih mampu mengubah menjadi phenylpiruvat. Sebagai akibatnya akan terjadi akumulasi fenilalanin dan fenilpiruvat yang dapat menyebabkan malformasi struktur otak sehingga terjadi retardasi mental. Tirosin juga akan diubah menjadi melatonin sehingga kulit kelihatan agak pucat (*light*), rambutnya pirang, karena melatonin bertanggung jawab terhadap pigmentasi. Kelainan (kekurangan) satu enzim saja dapat menyebabkan perubahan perilaku dan abnormalitas fisik. PKU terutama terjadi pada orang kulit putih (Amerika). PKU dapat diketahui dari kadar fenilalanin dan fenilpiruvat dari serum atau urine (Kalat, J.W., 1984: 6-8).

Sebagai akibat tidak terurainya fenilalanin menjadi tirosin, maka tertimbunlah fenilalanin dalam hati dan kelebihanannya akan masuk dalam peredaran darah serta diedarkan ke seluruh tubuh. Urin orang yang mengidap mengandung 300 – 1000 mg fenilalanin per 100 ml, sedangkan pada orang normal hanya sekitar 30 mg fenilalanin per 100 ml. Plasma darah penderita PKU mengandung 15 – 65 mg fenilalanin per 100 ml, sedang pada orang normal hanya 1 – 2 mg fenilalanin per 100 ml. Kadar fenilalanin yang berlebihan dalam darah itu mengganggu perkembangan dan pekerjaan otak, karena itu penderita PKU mengalami kelemahan mental dan pigmentasi rambut biasanya berkurang (Suryo,

2005). Pada penderita PKU fenilalanin akan diubah menjadi asam fenilpiruvat dan dikeluarkan melalui urin, kadar asam fenilpiruvat pada penderita adalah 300 – 2000 ppm (Watanabe dkk., 1997).

Penyakit PKU ini terbagi menjadi dua, yaitu PKU klasik dan PKU varian. Homozigot untuk satu dari beberapa mutasi yang berbeda dalam gen fenilalanin hidroksilase memiliki defisiensi enzimatis yang bervariasi dan sebagai akibatnya terjadi kenaikan kadar fenilalanin yang beragam. PKU klasik relatif sering dijumpai di antara orang-orang keturunan Skandinavia, tetapi jarang ditemukan pada orang kulit hitam.

PKU klasik merupakan kondisi yang umum terjadi dan menyebabkan aktivitas fenilalanin hidroksilase secara drastis turun bahkan berhenti. Seseorang dengan penderita PKU klasik mempunyai kadar fenilalanin yang cukup tinggi untuk menyebabkan kerusakan otak yang parah dan problem serius lainnya (Durham-Shearer et al., 2008). Pada PKU klasik, kadar fenilalanin darah melebihi 20 mg/dL padahal nilai normalnya kira-kira 1 – 2 mg/dL atau batas normalnya adalah 4 mg/dL (Schulze, 2003 dalam Lee, 2006).

Oleh karenanya penderita PKU klasik harus diobati secepat mungkin. Telah diperhitungkan bahwa seorang penderita dapat kehilangan 5 unit IQ untuk setiap keterlambatan pengobatan 10 minggu. Bila pengobatan terlambat 3 tahun, biasanya terjadi retardasi mental berat dan pengobatan yang dimulai pada saat ini tidak mempengaruhi perkembangan otak. Sedangkan PKU varian merupakan suatu kondisi versi sedang atau ringan dimana mutasi dalam gen PAH hanya membuat aktivitas enzim fenilalanin hidroksilase terhambat (Durham-Shearer, 2008).

Kadar fenilalanin plasma pada PKU varian biasanya berada antara kadar fenilalanin pada orang normal dan kadar fenilalanin pada penderita PKU klasik (Harris, 1994). Kadar fenilalanin darah pada PKU varian umumnya antara 8 – 20 mg/dL (Schulze, 2003 dalam Lee, 2006). PKU varian memiliki resiko yang lebih kecil pada kerusakan otak. Orang dengan kasus yang sangat ringan mungkin tidak memerlukan pengobatan dengan diet rendah fenilalanin (Anonymous, 2014).

Pencegahan keterbelakangan mental dapat dilakukan dengan mengontrol pemasukan fenilalanin harus dibatasi (tetapi tidak dihilangkan secara keseluruhan karena orang memerlukan beberapa fenilalanin untuk hidup) dimulai pada beberapa minggu pertama kehidupan. Diet yang ketat jika dimulai sedini mungkin dan dipertahankan dengan baik, menyebabkan perkembangan yang normal. Tetapi jika diet tidak terpelihara, anak yang terkena mungkin mulai mengalami kesukaran di sekolah. Diet yang ketat dimulai sesudah usia 2 sampai 3 tahun dapat mengontrol hiperaktif dan ketidakpedulian serta meningkatkan IQ anak.

Pengobatan PKU dengan memulai makanan rendah fenilalanin, maka makanan tersebut disesuaikan untuk memperoleh kadar fenilalanin serum yang berkisar dari 0,18 sampai 0,91 mM (3 sampai 15 mg/dL). Suatu makanan rendah fenilalanin barangkali diperlukan sampai kira-kira umur 15 tahun atau sampai kadar fenilalanin plasma tetap di bawah 0,73 mM (12 mg/dL) pada penderita dengan diet normal (Montgomery, 1993).

2.2 Metode Deteksi *Phenylketonuria*

2.2.1 Analisis Asam Fenilpiruvat dalam Urin Menggunakan Tes Larutan FeCl_3

Tes dengan larutan FeCl_3 merupakan metode umum folling. Beberapa tetes larutan FeCl_3 10 % atau 5 % ditambahkan ke dalam urin di sebuah tabung reaksi. Warna biru atau hijau muncul di atas 1 atau 2 menit dan kemudian secara berangsur-angsur mulai pudar. Urin yang tidak asam tidak menampilkan warna.

Kekurangan dari tes FeCl_3 adalah cairan spesimen dalam urin sulit diperoleh dari bayi yang baru lahir. Kekurangan selanjutnya adalah asam *p*-hidroksifenilpiruvat memberikan warna yang sama dengan warna yang diberikan asam fenilpiruvat dan pembentukan warna ini terjadi di atas 1 % dalam urin bayi (Sobotka, 1963). Asam *p*-hidroksifenilpiruvat memberikan warna biru kehijauan dengan larutan FeCl_3 dimana reaksinya sulit dibedakan dengan asam fenilpiruvat. Asam *p*-hidroksifenilpiruvat terdapat dalam urin pada makanan bayi dengan dosis tirosin atau fenilalanin yang besar, pada penderita *scurvy*, serta pada orang dewasa dan anak-anak yang menderita *hepatic cirrhosis* (Gibbs dan Wolf, 1959). Larutan FeCl_3 ditetaskan di atas popok basah, sehingga tidak membutuhkan cairan spesimen urin secara langsung, tetapi warna hijau lebih sulit terlihat di popok dan FeCl_3 akan menodai pakaian. Ferri amonium sulfat dan garam ferri lainnya berkelakuan seperti FeCl_3 (Sobotka, 1963).

2.2.2 Analisis Asam Fenilpiruvat dalam Urin Menggunakan Tes *Phenistix*

Phenistix adalah strip dari kertas absorben yang dilapisi dengan ferri amonium sulfat, buffer (asam sikloheksilsulfamat) dan garam fenilpiruvat buffer asam sikloheksilsulfamat dicampurkan pada pH optimum 2,3 untuk membentuk warna dan garam akan menjebak ion fosfat, meskipun diragukan sedikit fosfat

dapat dihilangkan oleh magnesium pada pH 2,3. Penggunaannya lapisan *phenistix* dicelupkan ke dalam urin kemudian dengan seketika diambil dan dibaca pada tabel warna setelah setengah atau satu menit. Tes ini lebih spesifik daripada FeCl_3 yang ditambahkan ke dalam urin. *Phenistix* memberikan warna yang sangat cepat berubah dengan asam *p*-hidroksifenilpiruvat, paling umum menyebabkan reaksi positif palsu dengan FeCl_3 . Bagaimanapun keuntungan *phenistix* adalah mudah dan simpel dalam tesnya (Sobotka and Stewart, 1963).

Phenistix lebih akurat dari pada tes FeCl_3 . Penambahan 0 mg fenilpiruvat per 100 mL pada urin, *Phenistix* memberikan reaksi negatif 95,7 %, sedangkan tes larutan FeCl_3 memberikan reaksi negatif 91 %. Penambahan 8 mg fenilpiruvat per 100 mL pada urin, *Phenistix* memberikan reaksi negatif 18 %, sedangkan tes larutan FeCl_3 memberikan tes negatif 40,5 % (Rupe dan Free, 1959). Strip *Phenistix* dapat mendeteksi sedikitnya 8 mg fenilpiruvat dalam 100 mL urin (Bettelheim, 2004).

Phenistix yang diteskan dalam asam fenilpiruvat dan asam *p*-hidroksifenilpiruvat memberikan warna yang berbeda. Pada asam fenilpiruvat diperoleh warna pada strip biru kehijauan pada waktu maksimal dalam satu menit dan mulai memudar dengan lambat. Pada asam *p*-hidroksifenilpiruvat diperoleh warna hijau yang berlangsung sebentar dan mulai memudar dalam 2 – 3 detik (Gibbs dan Woolf, 1959).

2.2.3 Analisis asam Fenilpiruvat dalam Urin Menggunakan 2,4-Dinitrofenilhidrazin

Sebuah larutan jenuh 2,4-dinitrofenilhidrazin dalam 1 N HCl atau 2 N HCl memberikan karakteristik endapan kuning 2,4-dinitrofenilhidrazon untuk asam fenilpiruvat ketika reagen ditambahkan pada urin phenylketonuria. Terlepas dari

phenylketonuria yang paling penting adalah tirosiluria dan penyakit *maple syrup urine* (leusinososis). Sensitifitas tes 2,4-dinitrofenilhidrazin tergolong sama seperti penggunaan FeCl_3 atau *Phenistix*. Dari tiga tes minimal mendeteksi dari 5 sampai 10 mg/100 mL tergantung kemampuan operator (Sobotka, 1963).

2.2.4 Analisis Asam Fenilpiruvat dalam Urin Menggunakan Metode *Filter Paper*

Ini merupakan teknik untuk skrining dalam jumlah populasi yang luas dengan mengumpulkan spesimen cairan dari urin atau tes pada popok bayi. Selembar *filter paper* diletakkan pada popok bayi dan setelah terbasahi dengan urin bayi, *filter paper* dikeringkan di udara dan mengirimnya melalui pos ke pusat laboratorium. Teknik ini dikenalkan dari teknik *paper tissue* pad dari Farquhar dan teknik gauze swap dimana objek diletakkan pada pad atau swab basah sampai diujikan. Larutan FeCl_3 ditetaskan ke *filter paper* kering dan jika terdapat asam fenilpiruvat, spot hijau atau bentuk cincin akan terbentuk (Sobotka, 1963).

2.2.5 Analisis Fenilalanin Urin Menggunakan Kromatografi Gas

Penentuan kadar fenilalanin dalam serum darah dan urin dapat dilakukan menggunakan kromatografi gas. Sampel urin dipreparasi dengan asam nitrit membentuk asam fenilaktat. Kemudian diekstraksi dengan eter dan diderivatisasi menggunakan bis(trimetilsilil)trifloroasetamida dalam suasana mild. Hasil derivatisasi dapat diinjeksikan ke dalam kolom kromatografi gas. Metode ini memberikan hasil yang cukup baik namun preparasi cukup rumit (Shihabi, 1973).

2.2.6 Analisis Fenilalanin dalam Darah dengan Uji Guthrie

Uji Guthrie tes yang merupakan bagian dari program pemeriksaan biokimia. Uji Guthrie adalah semi quantitative assay yang dirancang untuk mendeteksi darah dengan kadar asam amino fenilalanin yang cukup besar berdasarkan

kemampuan fenilalanin untuk mempercepat pertumbuhan bakteri pada suatu media kultur dengan inhibitor. Darah diambil dengan cara menusuk tumit bayi baru lahir. Darah dikumpulkan pada selembar kertas filter dan diletakkan dalam sebuah cawan petri yang telah berisi gel agar yang mengandung *Bacillus Subtilis* dan *B-2-thienyalanin*. Gel agar-agar dapat mendukung pertumbuhan bakteri tetapi *B-2-thienyalanin* menghambat pertumbuhan bakteri. Namun dengan adanya fenilalanin hambatan ini bisa diatasi dan bakteri dapat tumbuh. Jumlah pertumbuhan, yang diukur sebagai diameter koloni, kira-kira sebanding dengan jumlah fenilalanin di dalam serum. Hasilnya adalah membaca dengan membandingkan diameter koloni setiap disk sampel terhadap koloni dari serangkaian disk referensi dengan kandungan fenilalanin standar. Uji Guthrie ini memberikan hasil yang cukup baik meskipun mungkin mengalami kontaminasi sehingga menyebabkan hasil positif palsu (Vallian and Moeni, 2006).

2.2.7 Analisis Rasio Fenilalanin atau Tirosin dalam Serum dengan HPLC

Analisis rasio fenilalanin atau tirosin menggunakan HPLC dengan Fluorometry digunakan sebagai skrining test untuk kasus phenylketonuria di Amerika Serikat. HPLC yang digunakan adalah jenis ion exchange. Sampel yang digunakan adalah setetes darah yang diambil dari kaki dan diabsorpsi dengan *S* dan *S collection paper*. Bercak darah kering kemudian dielusi dengan 850 μL akuades selama 30 menit. Eluat tunggal digunakan untuk analisis rasio fenilalanin atau tirosin dengan HPLC. Standar Fenilalanin dan tirosin dilakukan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Range konsentrasi fenilalanin adalah 20 – 4029 $\mu\text{mol/L}$ sedangkan range konsentrasi tirosin 34 – 1104 $\mu\text{mol/L}$. Analisis rasio

fenilalanin atau tirosin dengan metode ini mempunyai koefisien variansi 5 % (Eastman dkk., 2000).

2.2.8 Analisis Fenilalanin dalam Serum dengan ID-LC/MS

Isotope Dillution Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (ID-LC/MS/MS) dikembangkan sebagai metode untuk penentuan kadar fenilalanin serum darah manusia. Keunggulan metode ini adalah preparasi serum darah cukup sederhana tanpa harus diderivatisasi, mendeteksi secara selektif dalam analisisnya dan menggunakan analog isotop sebagai standart internalnya. Metode ini memberikan hasil yang cukup baik dengan tingkat kepercayaan 95 % dan simpangan baku 1,2 %. Metode ini juga diujikan dengan materi referensi standar untuk memverifikasi metode. Hasil analisis sampel serum darah dengan metode ID-LC/MS/MS dibandingkan dengan metode klinis yang biasa dilakukan di Laboratorium Klinis dengan HPLC. Metode ID-LC/MS/MS menunjukkan kestabilan dan kekonsistenan ketika diuji beberapa kali dengan berbagai sampel dibandingkan dengan HPLC (Lee dkk., 2006).

2.2.9 Analisis Fenilalanin dalam Serum dengan Elektroforesis

Metode analisis fenilalanin serum dengan elektroforesis merupakan salah satu metode alternatif selain kromatografi cair dan kromatografi gas untuk diagnosa penyakit phenylketonuria. Instrumen elektroforesis yang digunakan sepanjang 65 cm, menggunakan 50 microe wide kapiler silika, fasa gerak yang digunakan 0,025 M asam benzoat (pH diatur sampai 10 dengan NaOH), detektor UV pada 214 nm. Efisiensi pemisahan untuk fenilalanin mencapai 150000 plat atau kolom. Hasil penelitian menunjukkan linieritas 5 – 175 µg/mL, sensitivitas 3 µg/mL, koefisien korelasi 0,9998 dan koefisien variansi 4 %. Metode ini cukup

memuaskan untuk analisis fenilalanin serum meskipun agak mahal (Tagliaro dkk., 1994).

2.2.10 Analisis Fenilalanin dalam Serum dengan *Flow Injection Analysis* (FIA)

Sistem *Flow Injection Analysis* (FIA) dengan reaktor enzim termobilisasi digunakan untuk penentuan fenilalanin serum. Sampel serum dideproteinisasi dengan asam tungstat dan disaring dengan membran ultrafiltrasi. Sampel diinjeksi dengan fasa gerak akuades. NADH yang terbentuk dideteksi dengan fluorometri pada 465 nm. Kurva kalibrasi linier pada range konsentrasi 0,9 – 600 μM , dengan limit deteksi 0,3 μM (Kiba dkk., 1997).

2.2.11 Analisis Fenilalanin Darah dalam *Filter Paper* Menggunakan Fluorometri dan Kolorimetri Enzimatis

Metode fluorometri dan kolorimetri sudah mulai menggeser Guthrie Test untuk monitoring pasien *phenylketonuria*. Pengukuran serum fenilalanin dilakukan dengan fluorometri dan diperoleh range konsentrasi antara 2 – 6 mg/dL. Pengukuran fenilalanin darah dengan *filter paper* dilakukan dengan kolorimetri enzimatis dan diperoleh range konsentrasi 4 – 10 mg/dL. Koefisien korelasi yang diperoleh 0,97 (Lemanska dkk., 2002).

2.3 Urin

2.3.1 Definisi urin

Urin adalah cairan sisa yang diekskresikan oleh ginjal yang kemudian akan dikeluarkan dari dalam tubuh melalui proses urinalisasi. Ekskresi urin diperlukan untuk membuang molekul-molekul sisa dalam darah yang disaring oleh ginjal dan untuk menjaga homeostasis cairan tubuh. Dalam mempertahankan homeostasis

tubuh peranan urin sangat penting, karena sebagian pembuangan cairan oleh tubuh adalah melalui sekresi urin (Iqbal, 2008).

Urin dibentuk oleh ginjal dalam menjalankan fungsinya secara homeostatik. Sifat dan susunan urin dipengaruhi oleh faktor fisiologis, misalnya masukan diet, sebagai proses dalam tubuh, suhu lingkungan, stress, mental dan fisik (Scanlon dan Sanders, 2000).

Ginjal berperan dalam pengaturan dalam karakteristik cairan tubuh termasuk ; volume darah, cairan luar sel, osmotalitas cairan tubuh konsentrasi spesifik berbagai keseimbangan asam basa (Kimball, 1991).

2.3.2 Komposisi zat-zat dalam urin

Komposisi zat-zat dalam urin bervariasi tergantung jenis makanan serta air yang diminumnya. Urin normal berwarna jernih transparan, sedang warna urin kuning muda berasal dari zat warna empedu (bilirubin dan biliverdin). Urin normal pada manusia terdiri dari air, urea, asam urat, amoniak, kreatinin, asam laktat, asam fosfat, asam sulfat, klorida, garam-garam terutama garam dapur. Semua cairan dan materi pembentuk urin tersebut berasal dari darah atau cairan interstisial. Komposisi urin berubah sepanjang proses reabsorpsi ketika molekul yang penting bagi tubuh, misalnya glukosa, diserap kembali ke dalam tubuh melalui molekul pembawa (Kus dkk., 2004).

Selain zat-zat diatas yang terkandung dalam urin, kandungan dalam urin juga terdapat zat-zat yang dikeluarkan dari darah karena kadarnya berlebihan. Fenilalanin yang terkandung dalam darah jika berlebihan maka akan diubah menjadi fenilpiruvat yang terdapat di dalam urin. Adanya fenilpiruvat ini akan

dideteksi di urin untuk mengetahui adanya suatu penyakit fenilketonuria (Deshmukh dkk., 2010).

2.3.3 Mekanisme pembentukan urin

Urin berasal dari darah yang dibawa arteri renalis masuk ke dalam ginjal dengan melalui glomerulus berfungsi sebagai ultrafiltrasi pada simpai Bowman, berfungsi untuk menampung hasil filtrasi dari glomerulus. Pada tubulus ginjal akan terjadi penyerapan kembali zat-zat yang sudah disaring pada glomerulus, sisa cairan akan diteruskan ke piala ginjal terus berlanjut ke ureter (Syarifuddin, 2003).

Ada 3 Tahap Pembentukan Urin:

1. Proses filtrasi

Proses ini terjadi di glomerulus, proses filtrasi terjadi karena permukaan eferen sehingga terjadi penyerapan darah. Sedangkan sebagian yang tersaring adalah bagian cairan darah kecuali protein. Cairan yang tersaring ditampung oleh simpai Bowman yang terdiri dari glukosa, air, natrium, klorida, sulfat, bikarbonat dll, yang diteruskan ke tubulus ginjal (Syarifuddin, 2003).

2. Proses Reabsorpsi

Fungsi utama tubulus proksimal adalah reabsorpsi yaitu proses dikembalikannya air bersama dengan glukosa, asam amino, asam urat dan protein yang berhasil menembus filter glomerulus ke aliran darah. Tubulus proksimal juga mengembalikan elektrolit, natrium, klorida dan bikarbonat. Simpai Henle mereabsorpsi air dan natrium. Tubulus distal secara halus mengatur konsentrasi ion – ion natrium, bikarbonat, fosfat dan hidrogen (Frances, 1995).

3. Proses Sekresi

Proses ini adalah proses penyerapan urin sisa dari filtrasi dan reabsorpsi. Proses penyerapan urin ini terjadi pada tubulus dan diteruskan ke piala ginjal selanjutnya diteruskan ke ureter masuk ke vesika urinaria (Syaifuddin, 2003).

2.3.4 Macam-macam sampel urin

a. Urin sewaktu

Adalah urin yang dikeluarkan pada satu waktu yang tidak ditentukan dengan khusus. Urin sewaktu ini cukup baik untuk pemeriksaan rutin yang menyertai pemeriksaan badan tanpa pendapat khusus (Gandasoebrata, 2006).

b. Urin pagi

Adalah urin yang pertama-tama dikeluarkan pada pagi hari setelah bangun tidur. Urin ini lebih pekat dari urin yang dikeluarkan siang hari, jadi baik untuk pemeriksaan sedimen, berat jenis, protein, tes kehamilan dan lain-lain.

c. Urin postprandial

Adalah urin yang pertama kali dilepaskan satu setengah jam sampai tiga jam sehabis makan. Urin ini berguna untuk pemeriksaan terhadap glukosuria.

d. Urin 24 jam

Adalah urin yang dikumpulkan selama 24 jam. Urin yang pertama keluar dari jam 7 pagi dibuang, berikutnya ditampung termasuk juga urin jam 7 pagi esok harinya (Gandasoebrata, 2006).

e. Urin 3 gelas dan urin 2 gelas pada laki-laki

Urin ini dipakai pada pemeriksaan urologik yang dimaksudkan untuk mendapatkan gambaran tentang letaknya radang atau lesi yang mengakibatkan adanya nanah atau darah dalam urin laki-laki. Urin 3 gelas adalah urin yang waktu

keluar langsung ditampung ke dalam gelas sedimen (gelas yang dasarnya menyempit) tanpa menghentikan aliran urinya. Ke dalam gelas pertama ditampung 20 – 30 ml urin yang mula-mula keluar, ke dalam gelas kedua dimasukkan urin berikutnya, beberapa ml terakhir ditampung dalam gelas ketiga. Untuk medapat urin 2 gelas, caranya sama seperti urin 3 gelas, dengan perbedaan: gelas ketiga ditiadakan dan ke dalam gelas pertama ditampung 50 – 70 ml urin (Gandasoebrata, 2006).

2.4 Polietilen glikol (PEG)

PEG (polietilen glikol) merupakan bahan dari salah satu jenis polimer yang dapat membentuk kompleks polimer pada molekul organik apabila ditambahkan dalam formulasi untuk meningkatkan kecepatan pelarutan yang dapat membentuk kompleks dengan berbagai obat. Cangkang kapsul dengan menggunakan basis polietilen glikol memiliki beberapa keuntungan karena sifatnya yang inert, tidak mudah terhidrolisis, tidak membantu pertumbuhan jamur. Polietilen glikol (PEG) adalah salah satu polimer yang banyak digunakan dalam industri pangan, kosmetik, dan farmasi. Secara kimiawi, PEG merupakan sekelompok polimer sintetik yang larut air dan memiliki kesamaan struktur kimia berupa adanya gugus hidroksil primer pada ujung rantai polieter. Beberapa sifat utama dari PEG adalah stabil, tersebar merata, higroskopik (mudah menguap), dapat mengikat pigmen.

Dalam industri farmasi, PEG digunakan untuk melarutkan obat-obat yang tidak larut air. Penggunaan PEG sebagai pelarut juga dapat meningkatkan penyebaran obat di dalam tubuh manusia. PEG dapat digunakan untuk melapisi kaca atau metal, dan sebagai campuran cat serta tinta. Di dalam kehidupan sehari -

hari, PEG juga dimanfaatkan untuk pembuatan kosmetik, perlengkapan mandi, dan alat-alat rumah tangga.

Polietilen glikol merupakan polimer asiklik yang mengandung gugus alkohol (OH) pada kedua ujungnya. Struktur polietilen glikol yang berbentuk poliasiklik dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 2.3 Struktur polietilenglikol

Walaupun gugus OH bukan atom yang stabil tetapi gugus ini mampu membentuk ikatan koordinatan dengan ion logam dan menghasilkan senyawa kompleks yang stabil. Kumpulan OH ini memiliki fungsi ganda seperti molekul air karena dapat menstabilkan dengan saling berinteraksi yaitu pertama dengan kation secara berkoordinatan. Kedua dengan anion melalui ikatan hidrogen sehingga bersifat nukleofilik, adanya reaksi ini menghalangi anion berinteraksi terlalu kuat dengan ion logam sehingga PEG disebut ligan fungsi berganda. Jenis rantai panjang PEG yang biasa dikenal adalah trietilen glikol (EO3) sampai heptaetilen glikol (EO7) (Setianingrum, 2011).

2.5 Larutan Buffer

Larutan buffer merupakan larutan yang digunakan untuk mempertahankan nilai pH tertentu agar tidak banyak berubah selama reaksi kimia berlangsung. Larutan buffer atau dapar merupakan suatu larutan yang dapat mempertahankan nilai pH tertentu. Adapun sifat yang paling menonjol dari larutan penyangga ini

seperti pH larutan penyangga hanya berubah sedikit pada penambahan sedikit asam kuat. Disamping itu larutan penyangga merupakan larutan yang dibentuk oleh reaksi suatu asam lemah dengan basa konjugatnya ataupun oleh basa lemah dengan asam konjugatnya. Reaksi ini disebut sebagai reaksi asam-basa konjugasi. Komponen larutan penyangga terbagi menjadi:

1. Larutan penyangga yang bersifat asam

Larutan ini mempertahankan pH pada daerah asam ($\text{pH} < 7$). Untuk mendapatkan larutan ini dapat dibuat dari asam lemah dan garamnya yang merupakan basa konjugasi dari asamnya. Adapun cara lainnya yaitu mencampurkan suatu asam lemah dengan suatu basa kuat dimana asam lemahnya dicampurkan dalam jumlah berlebih. Campuran akan menghasilkan garam yang mengandung basa konjugasi dari asam lemah yang bersangkutan. Pada umumnya basa kuat yang digunakan seperti natrium, kalium, barium, kalsium, dan lain-lain.

2. Larutan penyangga yang bersifat basa

Larutan ini mempertahankan pH pada daerah basa ($\text{pH} > 7$). Untuk mendapatkan larutan ini dapat dibuat dari basa lemah dan garam, yang garamnya berasal dari asam kuat. Adapun cara lainnya yaitu dengan mencampurkan suatu basa lemah dengan suatu asam kuat dimana basa lemahnya dicampurkan berlebih.

2.6 Asam Fenilpiruvat

Asam fenilpiruvat memiliki rumus molekul $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$ dengan berta molekul 164,16 gr/mol. Nama lainnya adalah 2-oxo-3-asam fenilpropanoat dan berbentuk padatan dengan warna abu-abu kecoklatan. Asam fenilpiruvat dapat berbentuk garam, yaitu natrium fenilpiruvat. Natrium fenilpiruvat berbentuk padatan,

berwarna putih, mempunyai berat molekul 186,14 gr/mol dan titik lebur 260 °C (Sigma-Aldrich, 2011).

Hasil penambahan ferri klorida ke dalam larutan fenilpiruvat pada buffer pH 2,2 menghasilkan warna biru kehijauan. Reaksi antara ion ferri dengan asam fenilpiruvat (PPA) (Saifer, 1959):



Tes yang didasarkan dari reaksi ion besi (III) dengan fenilpiruvat menghasilkan warna blue-green (Bettelheim, 2004). Asam fenilpiruvat akan bereaksi memberikan warna khas biru kehijauan dengan tes strip Phenistix dalam 30 detik (Rupe dan Free, 1959).

2.7 Immobilisasi

Teknik immobilisasi adalah suatu cara bagaimana mengikat reagen pada suatu matriks dengan syarat aktifitas dari reagen tersebut masih tetap ada (Sholecha, 2002). Teknik immobilisasi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu (Firmansyah, 2012):

1. Cara fisik yang meliputi teknik secara penjebakan (*entrapment*) yang merupakan suatu cara immobilisasi dimana reagen yang akan digunakan diperangkap dalam suatu matriks, *encapsulation* dan adsorpsi pada penyangga padat.
2. Cara kimia yaitu meliputi teknik pengikatan baik secara kovalen, non kovalen dan tehnik ikatan silang (*crosslinking*). Tehnik kovalen membutuhkan waktu yang sangat lama dan seringkali memerlukan beberapa tahap kimia.
3. Kombinasi cara fisik dan kimia.

Immobilisasi suatu zat dapat dilakukan dengan mencampurkan senyawa dengan suatu adsorben. Senyawa dapat teradsorpsi secara fisika atau kimia dan tertahan bersama adsorben dengan stabil. Immobilisasi pada KLT yang paling umum adalah menambahkan agent fluoresense sehingga KLT dapat berpendar di bawah lampu ultraviolet (Sholecha, 2002).

2.8 Adsorpsi

Adsorpsi adalah pengumpulan substansi pada permukaan adsorban berbentuk padatan (Reynolds dan Paul, 1995). Adsorpsi juga memiliki pengertian sebagai peristiwa penyerapan atau pengayaan (enrichment) suatu komponen di daerah antar fasa. Adsorpsi sendiri merupakan pengaruh dari gaya kohesi seperti ikatan valensi dan gaya tarik Van der Waals. Molekul-molekul tersebut saling mengikat kesemua arah sehingga dicapai suatu titik keseimbangan (equilibrium). Akan tetapi molekul lapisan terluar suatu zat padat mempunyai gaya tarik yang tidak diimbangi oleh molekul lainnya seperti zat cair dan gas sehingga permukaan zat padat dapat menangkap molekul fluida yang berdekatan. Fenomena ini dikenal dengan istilah adsorpsi pada permukaan adsorben.

Padatan berpori yang menghisap atau menyerap (adsorp) dan melepaskan (desorp) suatu fluida disebut adsorben. Molekul fluida yang dihisap tetapi tidak terakumulasi atau melekat ke permukaan adsorben disebut adsorptive, sedangkan yang terakumulasi atau melekat disebut adsorbat. Faktor yang mempengaruhi adsorpsi antara lain (Pohan dalam Kusnanto, 2007):

1. Karakteristik fisika dan kimia dari adsorben antara lain luas permukaan dan ukuran pori.

2. Konsentrasi adsorbat di dalam fasa cair.
3. Karakteristik fasa cair antara lain pH dan temperatur.
4. Waktu adsorpsi.

Adsorpsi dapat dibedakan menjadi dua jenis berdasarkan gaya yang menyebabkan adsorpsi yaitu (Oscik, 1982):

1. Adsorpsi fisika

Gaya yang menyebabkan adsorpsi pada adsorpsi fisika merupakan gaya Van der Waals. Gaya ini menyangkut tarik menarik elektrostatis antar molekul secara fisika yang terjadi antara permukaan adsorben dan adsorbat tanpa disertai perubahan kimia. Adsorbat dalam adsorpsi fisika tidak terikat kuat dengan adsorbennya sehingga dapat dengan mudah terjadi desorpsi atau pelepasan kembali adsorbat dari permukaan adsorben. Adsorpsi fisika ini mempunyai panas adsorpsi molar kurang dari 40 kJ/mol.

2. Adsorpsi kimia

Adsorpsi kimia merupakan hasil interaksi elektron-elektron molekul adsorben dan adsorbat sehingga mencakup pembentukan ikatan kimia. Gaya ikat yang terjadi lebih kuat daripada adsorpsi fisika sehingga adsorpsi kimia sulit terjadi desorpsi atau pelepasan kembali adsorbat dari permukaan adsorben. Adsorpsi kimia mempunyai panas adsorpsi tinggi yaitu sekitar 40-800 kJ/mol. Adsorbat hanya dapat membentuk satu lapisan atau monolayer pada permukaan adsorben.

2.9 Plat Silika

Silika gel merupakan penyerap polar yang paling sering digunakan, meskipun demikian silika gel juga banyak dijumpai dalam bentuk yang termodifikasi. Silika gel merupakan padatan pendukung yang ideal karena stabil pada kondisi asam, non swelling, memiliki karakteristik pertukaran serta memiliki daya tahan tinggi terhadap panas dan mudah dimodifikasi dengan bahan lain. Selain itu silika gel memiliki situs aktif berupa gugus silanol (SiOH) dan siloksan (Si-O-Si) di permukaan (Buhani dkk., 2009).

Silika gel merupakan silika amorf tersusun dari tetrahedral SiO_4 yang tersusun secara tidak beraturan dan beragregasi membentuk kerangka tiga dimensi yang terbentuk karena kondensasi asam ortosilikat. Struktur satuan mineral silika pada dasarnya mengandung kation Si^{4+} yang terkoordinasi secara tetrahedral dengan anion O^{2-} . Rumus kimia silika gel secara umum adalah $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (Oscik, 1982).

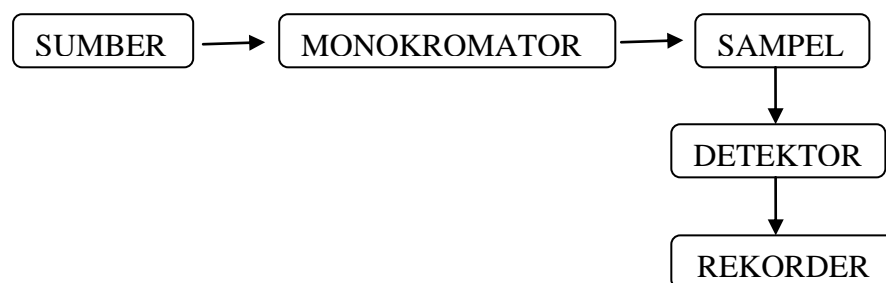
Kemampuan adsorpsi silika gel dipengaruhi oleh adanya situs aktif pada permukaannya yakni berupa gugus silanol (Si-OH) dan gugus siloksan (Si-O-Si). Sifat adsorpsi silika gel ditentukan oleh orientasi dari ujung tempat gugus hidroksi yang berkombinasi (Hartono dkk., 2002). Ketidakteraturan susunan permukaan tetrahedral SiO_4 pada silika gel menyebabkan jumlah distribusi satuan luas bukan menjadi ukuran kemampuan adsorpsi silika gel walaupun gugus silanol dan siloksan terdapat pada permukaan silika gel. Kemampuan adsorpsi silika gel ternyata tidak sebanding dengan jumlah gugus silanol dan siloksan yang ada pada permukaan silika gel, namun bergantung pada distribusi gugus $-\text{OH}$ per satuan luas adsorben (Oscik, 1982).

2.10 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Sinar Ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200 – 400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400 – 800 nm (Dachriyanus, 2004).

Sumber radiasi elektromagnetik yang mana sinar ultraviolet dan sinar tampak merupakan salah satunya dapat dianggap sebagai energi yang merambat dalam bentuk gelombang. Panjang gelombang merupakan jarak linier dari satu titik gelombang ke titik yang bersebelahan pada gelombang yang berdekatan (Gandjar dan Rohman, 2008).

Dengan sederhana dari spektrofotometer adalah sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 1991):



Gambar 2.4 Diagram sederhana spektrofotometer UV-Vis

Berikut disebutkan dalam tabel hubungan antara warna dengan panjang gelombang sinar tampak :

Tabel 2.1 Hubungan Warna dengan Panjang Gelombang Sinar Tampak

Panjang Gelombang	Warna yang diserap	Warna Komplementer
400 – 435 nm	Ungu (lembayung)	Hijau kekuningan
450 – 480 nm	Biru	Kuning
480 – 490 nm	Biru kehijauan	Orange
490 – 500 nm	Hijau kebiruan	Merah
500 – 560 nm	Hijau	Merah anggur
560 – 580 nm	Hijau kekuningan	Ungu (lembayung)
580 – 595 nm	Kuning	Biru
595 – 610 nm	Orange	Biru kekuningan
610 – 750 nm	Merah	Hijau kebiruan

Sumber: Gandjar dan Rohman, 2008

2.11 Penyakit dalam Perspektif Islam

Sebagian manusia sejak pertama dilahirkan mempunyai tubuh yang sehat dan kuat. Ia mempunyai jantung, otak, lever, pencernaan, ginjal dan saraf yang sehat dan normal, dan hingga akhir hidupnya ia tetap dikaruniai nikmat yang besar ini. Namun sebaliknya ada sekelompok manusia yang sejak dilahirkan ia sakit dan tidak mempunyai tubuh yang sehat dan kuat, dan oleh karena itu ia terus menerus dilanda berbagai macam penyakit. Rasulullah SAW bersabda:

المَرَضُ سَوْطُ اللَّهِ فِي الْأَرْضِ يُؤَدَّبُ اللَّهُ بِهِ عِبَادَهُ

"Penyakit adalah cambuk Tuhan di bumi ini, dengannya Dia (Allah) mendidik hamba-hamba-Nya."

Quraish Shihab dalam bukunya “Wawasan Al Qur’an” menyebutkan bahwa Islam menetapkan tujuan pokok kehadirannya untuk memelihara agama, jiwa, akal, jasmani, harta dan keturunan. Setidaknya tiga dari dari yang disebutkan tersebut berkaitan dengan kesehatan (kedokteran). Hal ini sejalan dengan kesepakatan ulama yang menyatakan bahwa Islam bertujuan untuk memelihara lima hal pokok, yakni agama (hifdh diin), kehidupan (hifdh al-nafs), keturunan (hifdh al-nasl), akal (hifdh al-‘aql) dan harta (hifdh al-maal). Setiap usaha yang dapat mendukung terciptanya salah satu dari tujuan tersebut, walaupun belum ditemukan dalam Al Qur’an dan Al Sunnah, mendapat dukungan penuh dari ajaran Islam. Seorang mukallaf akan memperoleh kemashlahatan manakala ia dapat memelihara kelima aspek pokok tersebut, sebaiknya ia akan merasakan mafsadat manakala ia tidak dapat memelihara kelima unsur pokok tersebut secara baik.

Dari sedikit uraian di atas, tampak dengan nyata bagaimana kedudukan kesehatan dalam Islam. Dalam Islam, kesehatan termasuk hal utama. Hal ini didukung dengan kenyataan bahwa banyak ayat Al-Qur’an dan hadist yang berkaitan dengan kesehatan. Sejak Islam pertama kali diterimakan kepada Nabi Muhammad SAW yakni pada ayat kedua surat al ‘Alaq sudah terkandung masalah ilmu kedokteran, yakni masalah kejadian manusia yang menjadi dasar ilmu kedokteran.

خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ ﴿٢﴾

Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah (Q.S al ‘Alaq:2)

Allah SWT juga berfirman dalam Al-Qur’an surat Yunus ayat 57:

يَتَأْتِيهَا النَّاسُ قَدْ جَاءَتْكُمْ مَوْعِظَةٌ مِّن رَّبِّكُمْ وَشِفَاءٌ لِّمَا فِي الصُّدُورِ وَهُدًى
 وَرَحْمَةٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ ﴿٥٧﴾

Hai manusia, Sesungguhnya telah datang kepadamu pelajaran dari Tuhanmu dan penyembuh bagi penyakit-penyakit (yang berada) dalam dada dan petunjuk serta rahmat bagi orang-orang yang beriman(Q.S Yunus :57).

Dari ayat tersebut terdapat tiga pelajaran yang dapat dipetik:

1. Al-Quran adalah sebaik-baik obat untuk menyembuhkan hati, jiwa dan ruh yang sakit.
2. Untuk menyembuhkan penyakit dan berbagai problema baik individu maupun sosial dewasa ini, manusia harus mengkaji dan merenungi kitab suci Al-Quran.
3. Al-Quran merupakan harta karun yang lebih baik dari segala kekayaan dunia. Orang miskin yang sebenarnya adalah orang yang tidak mendapatkan dan mengenyam pendidikan kitab suci Ilahi ini, sekalipun ia memiliki seluruh harta dunia. Sebaliknya, orang yang kaya adalah orang yang hidupnya bersama Al-Quran, sekalipun secara lahiriah ia dalam kesempitan dan tidak mempunyai uang.

Allah SWT juga berfirman dalam Al-Qur'an surat ali Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ
 ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
 السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (Ulul Albab) yaitu orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau

dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia. Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka (Q.S ali Imran: 190-191).

Dari ayat tersebut kita dapat mengetahui bahwa kedudukan sebagai manusia yang disebut oleh al-Qur'an sebagai sebaik-baik makhluk diantara makhluk lainnya, dimana manusia oleh Allah SWT dikarunia akal fikiran supaya kita menjadi orang-orang berfikir. Lebih spesifiknya manusia disebut dengan manusia ulul albab. Ulul Albab bukanlah manusia yang cepat puas dan berwatak pasrah. Sebagai manusia kita dituntut untuk berfikir dan mencari solusi dalam setiap masalah dan cobaan yang kita hadapi. Sebagai manusia ciptaan Allah SWT yang paling sempurna di antara makhluk-makhluk lainnya kita harus yakin akan tugas dasar manusia, yaitu sebagai makhluk yang akan memakmurkan dunia bukan merusak dan menyengsarakan orang lain. Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa polietilen glikol jika direaksikan dengan ferri amonium sulfat dapat digunakan untuk mendeteksi dini *phenylketonuria*. Kelebihan dari polietilen glikol ini tidak bersifat toksik, mampu membentuk kompleks yang cukup stabil dengan senyawa logam, tidak membutuhkan biaya yang mahal. Pemeriksaan genetik di Indonesia masih lumayan mahal sehingga jarang bahkan tidak pernah dilakukan pemeriksaan genetik terhadap bayi yang baru lahir. Dari penelitian ini telah dilakukan upaya untuk mencari solusi dari permasalahan yang kita hadapi tersebut.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2015 di Laboratorium Riset Kimia Analitik dan Kimia Instrumen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu takar 250 mL, labu takar 100 mL, labu takar 50 mL, labu takar 25 mL, labu takar 10 mL, labu takar 5 mL, beaker glass 500 mL, beaker glass 250 mL, beaker glass 100 mL, pipet tetes, pipet ukur 10 mL, pipet ukur 5 mL, pipet ukur 2 mL, gelas ukur 100 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas arloji, spatula, pengaduk, stirrer, bola hisap, botol semprot, corong gelas, hot plate, oven merk Heraeus, spektrofotometer UV-Vis dan timbangan analitik.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium fenilpiruvat p.a (Sigma Aldrich), Ferri (III) Amonium Sulfat ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), polietilen glikol p.a, KCl-HCl p.a, HCl 32 % p.a, plat KLT, urin bayi sehat bukan penderita PKU.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang akan dilakukan meliputi preparasi sampel, preparasi bahan, penentuan kondisi optimum kompleks Fe-fenilpiruvat menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian immobilisasi plat silika

dengan reagen identifikasi fenilpiruvat, uji kualitatif plat silika terimmobilisasi reagen identifikasi pada air dan sampel urin dan analisis data.

3.4 Langkah Kerja

3.4.1 Preparasi Bahan

Preparasi bahan meliputi pembuatan larutan natrium fenilpiruvat, pembuatan reagen identifikasi natrium fenilpiruvat yaitu larutan ferri amonium sulfat, larutan polietilen glikol dan larutan buffer KCl-HCl pH 2,0. Plat silika yang disiapkan dengan ukuran 2 x 2 cm.

3.4.1.1 Pembuatan Larutan Natrium Fenilpiruvat (Rupe dan Free, 1959)

a. Pembuatan Larutan Standar Natrium Fenilpiruvat pada Pelarut Air

Disiapkan larutan stok natrium fenilpiruvat 1000 ppm sebanyak 100 mL dengan aquades. Dibuat larutan natrium fenilpiruvat konsentrasi 50; 75; 100; 200; 300; 500 dan 700 ppm masing-masing sebanyak 10 mL dari larutan stok natrium fenilpiruvat 1000 ppm.

b. Pembuatan Larutan Natrium Fenilpiruvat pada Pelarut Urin

Dibuat larutan natrium fenilpiruvat pada konsentrasi 50; 75; 100; 200; 300; 500; dan 700 ppm dalam pelarut urin, yaitu dibuat larutan standar natrium fenilpiruvat pada masing-masing konsentrasi sebanyak 10 mL. Dilarutkan dalam beaker glass kemudian dihomogenkan menggunakan labu ukur 10 mL.

3.4.1.2 Pembuatan Reagen Identifikasi Fenilpiruvat

Pembuatan reagen identifikasi fenilpiruvat meliputi pembuatan reagen Ferri amonium sulfat, larutan polietilen glikol dan larutan buffer KCl pH 2,0.

a. Pembuatan Reagen Ferri amonium sulfat

Disiapkan reagen Ferri amonium sulfat 20.000 ppm sebagai larutan stok Ferri amonium sulfat sebanyak 100 mL. Ditimbang Ferri amonium sulfat

sebanyak 5 gr. Dilarutkan dalam beaker glass menggunakan akuades 50 mL, dipindahkan dalam labu takar 100 mL, kemudian ditandabatkan dengan aquades dan dihomogenkan. Dibuat reagen Ferri amonium sulfat pada konsentrasi 1000; 5000; 10.000; 15.000; dan 20.000.

b. Pembuatan reagen Polietilen glikol

Disiapkan larutan polietilen glikol dengan konsentrasi 2000 ppm sebagai larutan stok polietilen glikol sebanyak 100 mL. Ditimbang polietilen glikol sebanyak 0,3 gram, dipindahkan ke dalam beaker gelas diberi sedikit aquades. Kemudian diaduk hingga larut, dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL. Ditandabatkan dengan aquades dikocok hingga homogen. Dibuat polietilen glikol dengan konsentrasi 100; 300; 500; dan 700 ppm sebanyak 10 mL dari larutan stok polietilen glikol.

c. Pembuatan Larutan Buffer KCl-HCl pH 2,0

Dibuat larutan KCl 5 % sebanyak 50 mL. ditimbang 2,5 gram KCl dan dilarutkan dalam 50 mL akuades sampai homogen. Kemudian larutan KCl yang terbentuk ditetesi dengan HCl 5 % tetes demi tetes hingga pH larutan menjadi 2,0.

3.4.2 Penentuan Kondisi Optimum Reaksi fenilpiruvat dengan ion ferri menggunakan spektrofotometer UV-Vis

3.4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimum Kompleks Fe-Fenilpiruvat (Fe-Pp₃)

Diambil reagen ferri amonium sulfat 1000 ppm sebanyak 2 mL ke dalam labu takar 10 mL. Ditambahkan reagen polietilen glikol 500 ppm sebanyak 2 mL dan larutan buffer KCl-HCl pH 2,0 sebanyak 2 mL. Ditambahkan larutan natrium fenilpiruvat 500 ppm sebanyak 2 mL. Diukur absorbansinya dengan

menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 – 800 nm, sehingga diketahui panjang gelombang optimum.

3.4.2.2 Penentuan Waktu Kestabilan Kompleks Fe-Fenilpiruvat

Diambil reagen ferri amonium sulfat 1000 ppm sebanyak 2 mL ke dalam labu takar 10 mL. Ditambahkan reagen polietilen glikol 500 ppm sebanyak 2 mL dan larutan buffer KCl-HCl pH 2,0 sebanyak 2 mL. Ditambahkan larutan natrium fenilpiruvat 500 ppm sebanyak 2 mL. Diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum dengan beberapa variasi waktu antara 1 sampai 15 menit dalam interval 1 menit, sehingga diketahui waktu kestabilan kompleks Fe-fenilpiruvat terbentuk.

3.4.2.3 Penentuan Konsentrasi terbaik Reagen Ferri Amonium Sulfat yang Bereaksi dengan Fenilpiruvat

Diambil reagen Ferri amonium sulfat 1000 ppm sebanyak 2 mL ke dalam labu takar 10 mL. Ditambahkan reagen polietilen glikol 500 ppm sebanyak 2 mL dan larutan buffer KCl-HCl pH 2,0 sebanyak 2 mL. Ditambahkan larutan natrium fenilpiruvat 500 ppm sebanyak 2 mL. Diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum dan menggunakan waktu optimum yang telah didapat dari langkah sebelumnya. Diidentifikasi absorbansi terukur dari konsentrasi natrium fenilpiruvat 500 ppm. Diulang langkah tersebut dengan variasi konsentrasi ferri amonium sulfat dengan berbagai konsentrasi 5000; 10.000; 15.000 dan 20.000 ppm. Sehingga diperoleh konsentrasi terbaik reagen Ferri amonium sulfat. Diulangi prosedur di atas sebanyak tiga kali pengulangan.

3.4.2.4 Penentuan Konsentrasi Terbaik Reagen Polietilen Glikol terhadap Reaksi Fe-Fenilpiruvat

Diambil reagen Ferri amonium sulfat pada jumlah konsentrasi terbaik sebanyak 2 mL ke dalam labu takar 10 mL. Ditambahkan reagen polietilen glikol 100 ppm sebanyak 2 mL dan larutan buffer KCl-HCl pH 2,0 sebanyak 2 mL. Ditambahkan larutan natrium fenilpiruvat 500 ppm sebanyak 2 mL. Diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum dan waktu optimum yang telah didapat dari langkah sebelumnya. Diulangi prosedur di atas dengan reagen polietilen glikol 300; 500; 700 dan 2000 ppm. Dari konsentrasi terbaik reagen polietilen glikol yang diketahui dapat ditentukan pengaruh reagen polietilen glikol terhadap reagen Ferri amonium sulfat dengan larutan natrium fenilpiruvat. Diulangi prosedur di atas sebanyak tiga kali pengulangan.

3.4.3 Immobilisasi Reagen Ferri amonium sulfat, Polietilen Glikol dan Larutan Buffer KCl-HCl pada Plat Silika untuk Identifikasi Fenilpiruvat

Disiapkan reagen identifikasi fenilpiruvat berupa reagen Ferri amonium sulfat konsentrasi terbaik dari langkah sebelumnya dan konsentrasi polietilen glikol terbaik, serta larutan buffer KCl-HCl pH 2 dengan perbandingan (1:1:1) sebanyak 30 mL, serta plat silika ukuran 2 x 2 cm. Diimmobilisasikan reagen identifikasi fenilpiruvat ke atas fasa diam plat silika ukuran 2 x 2 cm dengan direndam selama 30 menit. Dikeringkan plat silika yang terimmobil reagen identifikasi fenilpiruvat dengan dioven pada suhu 35 °C selama 10 menit. Ditetesi plat silika dengan setetes sampel larutan natrium fenilpiruvat 500 ppm pada pelarut air.

3.4.4 Penentuan konsentrasi terkecil Fenilpiruvat yang dapat terdeteksi pada plat silika terimmobilisasi reagen identifikasi

Reagen identifikasi fenilpiruvat berupa reagen Ferri Amonium Sulfat dan Polietilen Glikol dengan jumlah konsentrasi terbaik, serta larutan buffer KCl-HCl pH 2 sebanyak 30 mL dengan perbandingan jumlah larutan (1 : 1 : 1), serta plat silika gel ukuran 2 x 2 cm. Diimmobilisasikan reagen identifikasi fenilpiruvat ke atas fasa diam plat silika gel ukuran 2 x 2 cm dengan direndam selama 30 menit pada seluruh bagian plat silika gel. Dikeringkan plat silika gel yang terimmobil reagen identifikasi fenilpiruvat menggunakan oven pada suhu 35 °C selama 10 menit. Ditetesi plat dengan setetes sampel larutan natrium fenilpiruvat 50 ppm pada pelarut air. Diidentifikasi plat dengan mengamati waktu bercak warna mulai terlihat, kejelasan dan kestabilan dari bercak warna yang terbentuk, sehingga diketahui performa silika untuk mendeteksi fenilpiruvat. Reagen identifikasi fenilpiruvat akan membentuk warna hijau dengan fenilpiruvat. Diulangi prosedur di atas dengan larutan natrium fenilpiruvat 75; 100; 200; 300; 500; 700 dan 1000 ppm.

3.4.5 Pengujian Plat Silika Terimmobilisasi terhadap Sampel

3.4.5.1 Preparasi Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah urin bayi sehat yang berusia 0 tahun sampai 5 tahun pada bayi laki-laki dan bayi perempuan. Sampel yang digunakan adalah urin pagi, jadi pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari pada jam 6 sampai jam 9 pagi. Urin bayi dikumpulkan di tempat yang steril dan tertutup rapat.

3.4.5.2 Pengujian Sampel pada plat silika

Plat silika yang telah diimmobilisasi dengan reagen identifikasi dengan komposisi terbaik diujikan pada urin dengan konsentrasi natrium fenilpiruvat 50; 75; 100; 200; 300; 500; 700 dan 1000 ppm dalam pelarut urin bayi sebanyak masing-masing 2 – 3 tetes. Diamati perubahan warna selama 5 menit kemudian diidentifikasi plat dengan mengamati bercak warna mulai terlihat, kejelasan dan kestabilan bercak warna yang terbentuk.

3.4.6 Analisis Data

Data yang telah diperoleh dalam penelitian ini meliputi data yang didasarkan pada analisis menggunakan metode absorbansi polietilen glikol terhadap konsentrasi fenilpiruvat. Sedangkan data yang diperoleh dianalisis dengan analisis of varians (ANOVA) one way untuk menguji adanya pengaruh polietilen glikol terhadap kompleks Fe-Fenilpiruvat.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian yang telah dilakukan ini adalah penelitian tentang analisis fenilpiruvat dalam urin menggunakan reagen utama ferri amonium sulfat ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) dan menghasilkan kompleks yang berwarna hijau. Sedangkan polietilen glikol (PEG) merupakan senyawa yang diharapkan mampu menstabilkan senyawa kompleks sehingga warna kompleks yang terbentuk juga stabil. Penelitian ini mempelajari tentang pengaruh polietilen glikol (PEG) untuk analisis fenilpiruvat pada urin. Tahapan dalam penelitian ini yaitu meliputi preparasi bahan, penentuan kondisi optimum senyawa Fe-fenilpiruvat, penentuan jumlah konsentrasi terbaik dari reagen ferri amonium sulfat dan PEG, penentuan immobilisasi untuk identifikasi fenilpiruvat menggunakan reagen ferri amonium sulfat, PEG dan larutan buffer KCl-HCl pada plat silika gel untuk identifikasi fenilpiruvat, preparasi sampel, penentuan konsentrasi terkecil fenilpiruvat yang dapat diidentifikasi pada pelarut air dan urin bayi sehat dengan metode plat silika gel terimmobil reagen identifikasi fenilpiruvat serta analisis data.

4.1 Preparasi Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium fenilpiruvat, ferri amonium sulfat ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), polietilen glikol (PEG), dan buffer KCl-HCl pH 2,0. Pembuatan larutan natrium fenilpiruvat dibuat dengan menggunakan pelarut air dan pelarut urin. Larutan natrium fenilpiruvat pada pelarut air dibuat dengan variasi konsentrasi natrium fenilpiruvat 50; 75; 100; 200; 300; 500; 700 dan 1000 ppm, sedangkan larutan natrium fenilpiruvat pada

pelarut urin dibuat dengan variasi konsentrasi natrium fenilpiruvat 100; 150; 200; 400; 600; 1000; 1400 dan 2000 ppm , kemudian dicampur dengan urin dengan perbandingan 1 : 1 sebanyak 1 mL. Pembuatan variasi konsentrasi natrium fenilpiruvat ini dibuat untuk menentukan konsentrasi terkecil natrium fenilpiruvat yang dapat terdeteksi menggunakan metode plat silika gel terimmobil reagen identifikasi fenilpiruvat.

Reagen ferri amonium sulfat dibuat dengan variasi konsentrasi ferri amonium sulfat sebesar 1000; 5000; 10.000; 15.000; dan 20.000 ppm. Fungsi dari reagen ferri amonium sulfat ini digunakan agar dapat bereaksi dengan natrium fenilpiruvat membentuk kompleks Fe-fenilpiruvat yang berwarna hijau. Sedangkan reagen polietilen glikol dibuat dengan variasi konsentrasi polietilen glikol 100; 300; 500; 700 dan 2000 ppm. Reagen polietilen glikol digunakan untuk membentuk ligan dengan Fe^{3+} sehingga terbentuk kompleks yang stabil. Buffer KCl-HCl dibuat dengan pH 2,0. Langkah pembuatan buffer KCl-HCl yaitu membuat KCl 5 % dengan cara menimbang 5 gram dan melarutkan ke dalam 100 mL aquades sampai homogen. Kemudian larutan tersebut ditetesi dengan HCl 5 % sampai pH larutan menjadi 2,0. Fungsi dari buffer KCl-HCl yaitu digunakan untuk mempertahankan warna yang terbentuk dari pembentukan kompleks Fe-fenilpiruvat.

4.2 Penentuan Kondisi Optimum

4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Optimum Kompleks Fe-Fenilpiruvat (Fe-PP₃)

Langkah pertama pada penentuan kondisi optimum ini adalah menentukan panjang gelombang optimum kompleks Fe-fenilpiruvat. Penentuan panjang gelombang optimum kompleks Fe-Fenilpiruvat dilakukan dengan cara mencampurkan larutan ferri amonium sulfat 1000 ppm, polietilen glikol 500 ppm, buffer KCl-HCl pH 2,0 dan natrium fenilpiruvat sebesar 500 ppm kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang antara 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Analisis spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul yang mengalami transisi antar elektron. Interaksi ini yang menyebabkan terjadinya penyerapan energi radiasi elektromagnetik.

Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk mengukur absorbansi kompleks Fe-fenilpiruvat, karena warna kompleks yang dihasilkan yaitu berwarna hijau. Ion ferri (Fe³⁺) dari senyawa ferri amonium sulfat (NH₄Fe(SO₄)₂·12H₂O) bereaksi dengan fenilpiruvat akan memberikan warna hijau dan reaksinya sebagai berikut (Saifer, 1959):



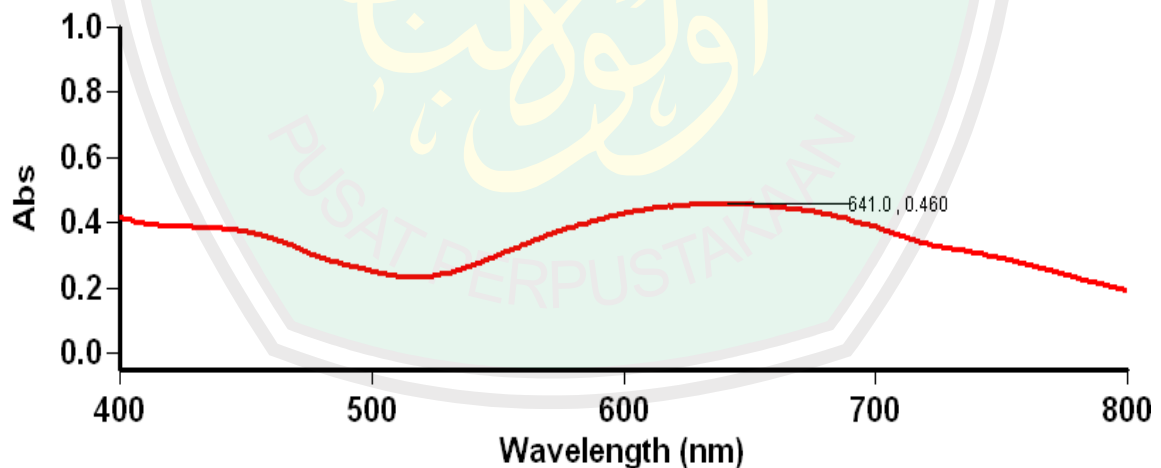
Panjang gelombang optimum yang sudah ditentukan pada analisis sampel menggunakan metode spektrofotometer yang digunakan untuk menghasilkan nilai absorbansi optimum dimana nilainya sebanding dengan konsentrasi sampel. Hal ini didasarkan bahwa suatu senyawa mempunyai panjang gelombang yang tertentu pula.

Hubungan antara energi dari suatu senyawa dengan panjang gelombang sebagai berikut:

$$E = h c / \lambda$$

Energi yang dimiliki oleh suatu senyawa berbanding terbalik dengan panjang gelombangnya, semakin besar energi yang digunakan oleh suatu senyawa, maka panjang gelombang yang digunakan semakin kecil dan sebaliknya.

Kompleks Fe-fenilpiruvat yang berwarna hijau mempunyai spektrum cahaya pada panjang gelombang daerah visibel yaitu antara 610 – 750 nm, sehingga pada penentuan panjang gelombang optimumnya digunakan range pada daerah panjang gelombang 400-800 nm. Berdasarkan penelitian didapatkan bahwa panjang gelombang optimum kompleks Fe-fenilpiruvat dapat dilihat pada Gambar 4.1 berikut:



Gambar 4.1 Spektra UV-Vis kompleks Fe-fenilpiruvat

Berdasarkan Gambar 4.1, panjang gelombang optimum dari senyawa kompleks Fe-fenilpiruvat yang didapat dari hasil pengukuran adalah 641,0 nm

($A=0,460$). Dari hasil panjang gelombang optimum tersebut dapat diketahui bahwa serapan optimum kompleks Fe-fenilpiruvat adalah pada panjang gelombang 641,0 nm. Panjang gelombang optimum yang didapat tersebut digunakan untuk menentukan konsentrasi terbaik (optimum) dari reagen ferri amonium sulfat dan reagen polietilen glikol.

Menurut penelitian Fitriani (2013), panjang gelombang senyawa kompleks Fe-fenilpiruvat yang diperoleh adalah 637 nm ($A = 0,816$) dengan reagen identifikasi fenilpiruvat yang digunakan adalah reagen FeCl_3 , MgSO_4 serta buffer pH $\text{CH}_3\text{COONa-HCl}$.

Menurut penelitian Nofemmy (2014), panjang gelombang senyawa kompleks Fe-fenilpiruvat yang diperoleh adalah 640 nm ($A = 0,416$) dengan reagen identifikasi fenilpiruvat yang digunakan adalah reagen FeCl_3 , Na-EDTA serta buffer KCl-HCl.

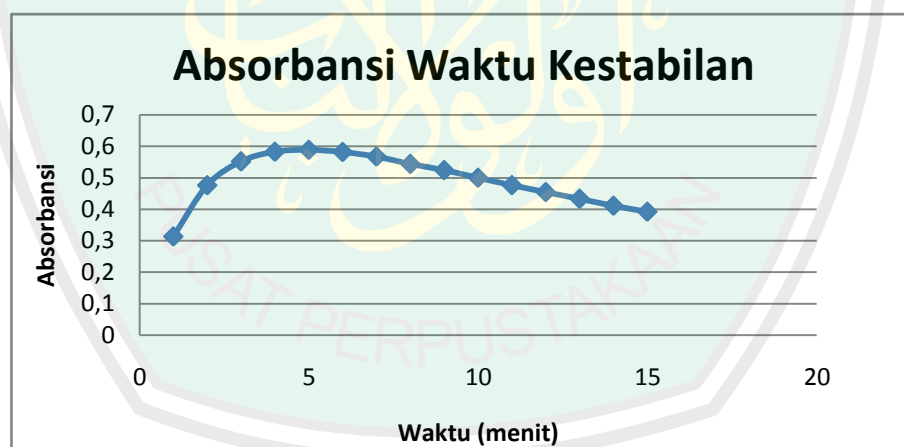
Menurut penelitian Saifer (1959), panjang gelombang senyawa kompleks Fe-fenilpiruvat yang diperoleh adalah 630 nm ($A = 0,620$) dengan reagen identifikasi fenilpiruvat yang digunakan adalah campuran FeCl_3 10 % dengan ferro amonium sulfat, buffer glisin dan uranil nitrat. Maka dapat dikatakan bahwa panjang gelombang optimum yang diperoleh di daerah visibel, dimana panjang gelombang yang dihasilkan tidak jauh berbeda dengan penelitian Saifer tersebut.

Warna dari suatu kompleks timbul akibat adanya transisi elektronik yaitu transisi elektron dari satu tingkat energi ke tingkat energi yang lebih tinggi dimana energi yang diadsorpsi untuk terjadinya transisi, yang merupakan perbedaan antara dua tingkat energi tersebut, bersesuaian dengan panjang gelombang sinar yang terdapat pada spektrum sinar tampak. Warna kompleks yang dapat diindera

oleh mata manusia adalah warna komplementer dari sinar yang diadsorpsi oleh kompleks yang bersangkutan (Effendy, 2010).

4.2.2 Penentuan Waktu Kestabilan Kompleks Fe-Fenilpiruvat

Penentuan waktu kestabilan pembentukan kompleks Fe-fenilpiruvat dilakukan dengan menggunakan reagen ferri amonium sulfat 1000 ppm, polietilen glikol 500 ppm, buffer KCl-HCl pH 2,0 dan natrium fenilpiruvat 500 ppm dengan menggunakan variasi waktu antara 1 sampai 15 menit dengan interval waktu 1 menit. Tujuan dari penentuan waktu kestabilan disini adalah untuk mengetahui waktu pengukuran di saat ion Fe^{3+} bereaksi sempurna dengan fenilpiruvat. Dari hasil penelitian didapatkan waktu optimum untuk pembentukan kompleks Fe-fenilpiruvat menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dapat dilihat pada grafik 4.2 sebagai berikut:.

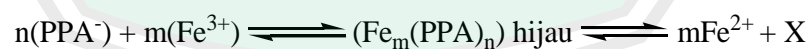


Gambar 4.2 Grafik penentuan waktu kestabilan pembentukan kompleks Fe-fenilpiruvat

Berdasarkan Gambar 4.2, waktu kestabilan kompleks Fe-fenilpiruvat yaitu 3 – 7 menit. Hal ini dapat diketahui dari nilai absorbansinya, perubahan nilai absorbansi dari menit ke-3 sampai menit ke tujuh perubahannya cukup kecil. Nilai absorbansi tertinggi yaitu pada waktu 5 menit dengan nilai absorbansi sebesar

0,5888. Pada waktu 3 menit menunjukkan nilai absorbansi 0,5521, nilai absorbansinya lebih rendah dari pada waktu 4 menit. Hal ini kemungkinan disebabkan karena reaksi pembentukan dari kompleks Fe-fenilpiruvat masih belum optimal atau belum sempurna, sehingga intensitas warna yang dihasilkan juga belum optimal, sedangkan pada waktu 5 menit, reaksi pembentukan kompleks Fe-fenilpiruvat sudah optimal atau sudah sempurna, sehingga intensitas warna yang dihasilkan juga optimal. Pada waktu 7 menit menunjukkan nilai absorbansi yaitu 0,5673. Jadi warna cukup stabil pada waktu 3 sampai 7 menit.

Range waktu terpilih adalah antara waktu 1 sampai 15 menit, dikarenakan pada range tersebut masih dimungkinkan untuk bereaksi secara sempurna dalam pembentukan kompleks. Pada waktu 6 sampai 15 menit, nilai absorbansinya semakin menurun, hal ini kemungkinan kompleks Fe-fenilpiruvat yang terbentuk tersebut sudah terurai kembali atau tereduksi, sehingga intensitas warnanya juga semakin menurun. Pada waktu 6 menit inilah intensitas warna kompleks Fe-fenilpiruvat mulai menurun, dimana dimungkinkan kompleks Fe-fenilpiruvat mulai terdisosiasi membentuk ion Fe^{2+} dan senyawa yang teroksidasi. Jika direaksikan dapat ditulis sebagai berikut (Saifer, 1959):



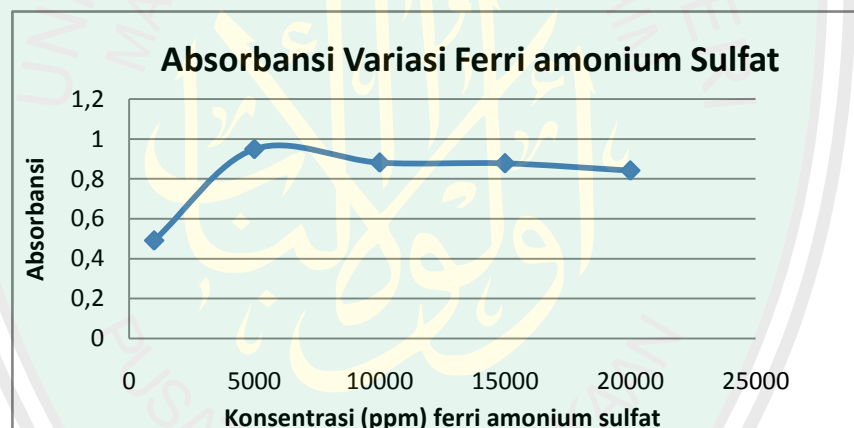
X diduga sebagai senyawa yang teroksidasi.

4.3 Penentuan Konsentrasi Terbaik Reagen Identifikasi Fenilpiruvat

4.3.1 Penentuan Konsentrasi Terbaik Reagen Ferri amonium sulfat yang Bereaksi dengan Fenilpiruvat

Penentuan jumlah konsentrasi terbaik reagen Ferri amonium sulfat dilakukan dengan cara menambahkan polietilen glikol 500 ppm, buffer KCl-HCl

pH 2,0 dan natrium fenilpiruvat 500 ppm dilakukan pada variasi konsentrasi ferri amonium sulfat 1000 ppm; 5000 ppm ; 10.000 ppm; 15.000 ppm dan 20.000 ppm. Penentuan konsentrasi terbaik reagen Ferri amonium sulfat ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terbaik ferri amonium sulfat di saat bereaksi dengan fenilpiruvat membentuk kompleks Fe-fenilpiruvat. Penentuan konsentrasi terbaik Ferri amonium sulfat dilakukan dengan cara menggunakan spektrofotometer UV-Vis yaitu dengan cara mencari nilai absorbansinya dari masing-masing konsentrasi ferri amonium sulfat. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan konsentrasi terbaik reagen Ferri amonium sulfat menggunakan spektrofotometer UV-Vis sebagai berikut:

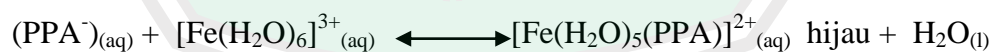


Gambar 4.3 Grafik penentuan konsentrasi terbaik Ferri amonium sulfat dengan fenilpiruvat

Berdasarkan Gambar 4.3 tersebut dapat dilihat bahwa konsentrasi terbaik Ferri amonium sulfat adalah 5000 ppm dengan nilai absorbansi 0,9493. Semakin banyak ion Fe^{3+} , maka akan semakin banyak ion Fe^{3+} yang bereaksi dengan fenilpiruvat membentuk senyawa kompleks Fe-fenilpiruvat. Pada Ferri amonium sulfat 1000 ppm warna yang terbentuk adalah hijaumuda dan stabilitas warna hijau yang terbentuk hanya sekitar 30 menit. Pada Ferri amonium sulfat 10.000

ppm warna yang terbentuk adalah hijau lebih muda dari konsentrasi 5000 ppm dan stabilitas warna hijau yang terbentuk sekitar 1 jam 30 menit. Pada Ferri amonium sulfat konsentrasi 15.000 ppm warna yang terbentuk adalah hijau lebih muda dari ferri amonium sulfat 10.000 ppm dan stabilitas warna hijau yang terbentuk sekitar 1 jam lebih. Pada Ferri amonium sulfat konsentrasi 20.000 ppm warna yang terbentuk adalah hijau lebih muda dan stabilitas warna hijau yang terbentuk sekitar 1 jam. Dari tingkat kehijauan dan stabilitas warna kompleks Fe-fenilpiruvat, serta nilai absorbansi yang dihasilkan, disimpulkan bahwa konsentrasi optimum Ferri amonium sulfat adalah 5000 ppm. Pada konsentrasi ini reaksi antara ion Fe^{3+} dengan fenilpiruvat memiliki nilai absorbansi tertinggi yaitu 0,9493. Pada Ferri amonium sulfat 5000 ppm reaksi kompleks antara Fe-Fenilpiruvat adalah yang paling optimum. Stabilitas warna yang dihasilkan juga dapat dilihat pada Ferri amonium sulfat 15.000 ppm dan 20.000 ppm semakin menurun. Hal ini dimungkinkan kompleks Fe^{3+} tereduksi menjadi Fe^{2+} .

Larutan Fe^{3+} pada pH asam berbentuk ion ferri akuo $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$, ion ferri dapat mengikat satu ligan fenilpiruvat. maka dapat diduga ion Fe^{3+} saat bereaksi dengan fenilpiruvat membentuk senyawa kompleks $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{PPA})]^{2+}$:

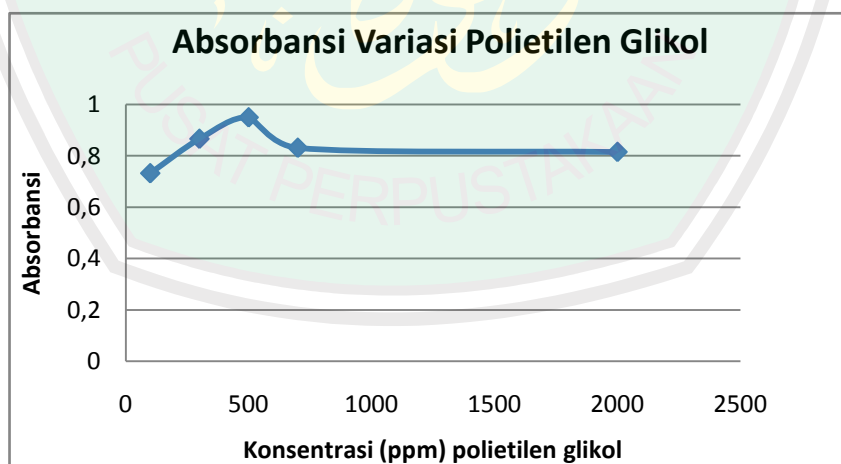


Logam transisi pertama akan membentuk kompleks yang stabil dengan ligan yang atom donornya N, O atau F (Sukardjo, 1992). Ion Fe^{3+} yang termasuk logam transisi pertama akan membentuk kompleks dengan fenilpiruvat yang mempunyai atom O.

4.3.2 Penentuan Konsentrasi Terbaik Reagen Polietilen glikol yang Bereaksi dengan Kompleks Fe-Fenilpiruvat

Langkah selanjutnya yaitu penentuan konsentrasi terbaik polietilen glikol. Penentuan konsentrasi terbaik reagen polietilen glikol ini yaitu dengan cara mencampurkan reagen ferri amonium sulfat konsentrasi terbaik yang didapat dari langkah sebelumnya yaitu 5000 ppm, buffer KCl-HCl pH 2,0, polietilen glikol 100 ppm dan natrium fenilpiruvat 500 ppm. Langkah tersebut diulangi dengan variasi konsentrasi polietilen glikol yaitu 300ppm; 500 ppm; 700 ppm dan 2000 ppm. Penentuan konsentrasi terbaik reagen polietilen glikol ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terbaik reagen polietilen glikol yang berfungsi membentuk khelat atau ligan dengan Fe^{3+} sehingga membentuk kompleks yang stabil.

Berdasarkan hasil penelitian dengan cara menggunakan spektrofotometer UV-Visdidapatkan konsentrasi terbaik reagen polietilen glikol sebagai berikut:



Gambar 4.4 Grafik penentuan konsentrasi terbaik polietilen glikol dengan fenilpiruvat

Berdasarkan Gambar 4.4 tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi terbaik polietilen glikol adalah 500 ppm dengan nilai absorbansi 0,9499. Pada konsentrasi polietilen glikol 500 ppm warna yang terbentuk adalah hijau sangat tua dan stabilitas warna hijau yang terbentuk sekitar 1 jam 30 menit. Pada polietilen glikol dengan konsentrasi 100 ppm warna yang terbentuk adalah hijau tua dan stabilitas warna hijau yang terbentuk sekitar 50 menit. Pada polietilen glikol 300 ppm warna yang terbentuk adalah hijau tua hampir sama dengan polietilen glikol 500 ppm dan stabilitas warna hijau yang terbentuk sekitar 1 jam lebih. Pada polietilen glikol 700 ppm warna yang terbentuk adalah hijau tua dan stabilitas warna hijau yang terbentuk sekitar 1 jam. Dari Grafik 4.4 dapat disimpulkan bahwa jika konsentrasi polietilen glikol kurang dari 500 ppm maka kompleks yang dihasilkan akan mudah terionisasi. Jika konsentrasi polietilen glikol lebih dari 500 ppm maka polietilen glikol yang awalnya bersifat menstabilkan dia akan berubah menjadi kompetitor bagi fenilpiruvat.

Analisis statistika menggunakan uji satu arah ANOVA pada data absorbansi polietilen glikol menghasilkan nilai F_{hitung} sebesar 37 pada variasi konsentrasi polietilen glikol di jumlah konsentrasi optimum ferri amonium sulfat. Sedangkan nilai F_{tabel} absorbansi polietilen glikol pada variasi konsentrasi polietilen glikol di jumlah konsentrasi optimum Ferri amonium sulfat dengan tingkat toleransi 0,05 pada (5 % ; 0,042) yaitu sebesar 3,84. Hal ini dapat dikatakan bahwa hasil data absorbansi polietilen glikol mempunyai nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$. Dari perhitungan statistik ini dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan hasil dari absorbansi polietilen glikol dengan adanya variasi konsentrasi polietilen glikol di jumlah konsentrasi optimum ferri amonium sulfat. Nilai P_{value} pada

variasi konsentrasi sebesar 0,022, dengan tingkat toleransi 0,05, hal ini menunjukkan bahwa data absorbansi polietilen glikol mempunyai nilai $P_{\text{value}} < \alpha$. Dan dari analisis ini dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan hasil absorbansi dari polietilen glikol dengan adanya variasi konsentrasi polietilen glikol di jumlah konsentrasi optimum ferri amonium sulfat, dengan demikian variasi konsentrasi polietilen glikol di jumlah konsentrasi optimum ferri amonium sulfat mempunyai pengaruh terhadap absorbansi polietilen glikol. Sehingga dapat dikatakan polietilen glikol mempunyai pengaruh terhadap kestabilan kompleks Fe-fenilpiruvat.

4.4 Immobilisasi Reagen Ferri amonium sulfat, Polietilen Glikol dan Larutan Buffer KCl-HCl pada Plat Silika untuk Identifikasi Fenilpiruvat

Immobilisasi reagen Ferri amonium sulfat ($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), polietilen glikol dan larutan buffer KCl-HCl pH 2,0 pada plat silika gel untuk identifikasi fenilpiruvat dilakukan dengan cara fisik yaitu teknik adsorpsi fisik. Immobilisasi terbaik didasarkan dari hasil variasi waktu perendaman dan teknik pengeringan reagen identifikasi fenilpiruvat terhadap plat silika gel. Pada penelitian ini lebih memilih teknik adsorpsi fisik karena teknik ini tidak disertai perubahan kimia ketika reagen identifikasi fenilpiruvat terikat pada plat silika gel, tetapi teknik ini mempunyai kelemahan yaitu mudah terjadi desorpsi atau pelepasan kembali absorbat (reagen identifikasi fenilpiruvat) dari permukaan adsorben (plat silika gel). Immobilisasi reagen identifikasi fenilpiruvat pada plat silika gel dilakukan melalui dua tahapan, yaitu penentuan waktu perendaman dan teknik pengeringan reagen identifikasi fenilpiruvat terhadap plat silika gel. Reagen identifikasi fenilpiruvat terdiri dari reagen Ferri


amonium sulfat($\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 5000 ppm, Polietilen glikol 500 ppm dan larutan buffer KCl-HCl pH 2,0 dengan perbandingan 1 : 1 : 1 sebanyak 30 mL. Plat silika kemudian direndam selama 30 menit kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 35°C selama 10 menit. Setelah dilakukan pengeringan kemudian plat silika ditetesi dengan sampel natrium fenilpiruvat dalam pelarut air dengan konsentrasi 500 ppm. Hasil dari immobilisasi plat silika sebagai berikut:

Tabel 4.1 Immobilisasi plat silika dengan reagen identifikasi terbaik

Pengulangan	Warna Kompleks Fe-Fenilpiruvat	Respon mulai terbentuknya warna	Stabilitas Warna
1	Hijau	12 detik	> 30 menit mulai pudar
2	Hijau	11 detik	> 30 menit mulai pudar
3	Hijau	9 detik	> 30 menit mulai pudar

4.5 Penentuan Konsentrasi Terkecil Fenilpiruvat yang Dapat Terdeteksi Pada Plat Silika Terimmobilisasi Reagen Identifikasi

Penentuan konsentrasi terkecil fenilpiruvat diujikan dalam sampel natrium fenilpiruvat pada pelarut air dan urine dengan berbagai variasi konsentrasi natrium fenilpiruvat yang sudah ditentukan (Nofemmy, 2014). Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penentuan konsentrasi terkecil fenilpiruvat dalam sampel natrium fenilpiruvat pada pelarut air dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Konsentrasi Natrium fenilpiruvat (ppm)	Waktu respon mulai terbentuknya warna	Intensitas warna dalam 5 menit
50	-	 Warna hijau belum tampak
75	54 detik	 Warna hijau sangat tipis
100	25 detik	 Warna hijau tipis
200	14 detik	 Warna hijau kurang kuat
300	12 detik	 Warna hijau mulai kuat
500	10 detik	 Warna hijau kuat
700	8 detik	 Warna hijau lebih kuat
1000	7 detik	 Warna hijau sangat kuat

Pada Tabel 4.2 dapat diketahui konsentrasi terkecil natrium fenilpiruvat dalam pelarut air yang dapat terdeteksi menggunakan plat silika terimmobilisasi reagen identifikasi. Plat silika yang telah terimmobilisasi reagen, ditetesi dengan 2 – 3 sampel natrium fenilpiruvat dengan variasi konsentrasi yang tercantum dalam tabel di atas. Ketika plat silika ditetesi natrium fenilpiruvat 50 ppm plat silika tidak menunjukkan perubahan warna menjadi hijau.

Pada konsentrasi natrium fenilpiruvat 75 ppm plat silika menunjukkan perubahan warna walaupun warna hijau belum terlihat jelas, perubahan warna tampak dalam waktu 54 detik setelah penetesan natrium fenilpiruvat 75 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 7 menit 32 detik dan hilang dalam 1 jam. Hasil natrium fenilpiruvat 100 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 75 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 25 detik setelah penetesan natrium fenilpiruvat 100 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam waktu 22 menit dan hilang dalam 1 jam lebih. Hasil natrium fenilpiruvat 200 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 100 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 14 detik setelah penetesan natrium fenilpiruvat 200 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam waktu 28 menit lebih dan hilang dalam waktu 1 jam 50 menit. Hasil natrium fenilpiruvat 300 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 200 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 12 detik setelah penetesan natrium fenilpiruvat 300 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 32 menit lebih dan hilang dalam waktu 5 jam. Hasil natrium fenilpiruvat 500 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 300 ppm dan warna mulai tampak dalam

waktu 10 detik setelah penetesannya natrium fenilpiruvat 500 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 32 menit lebih dan hilang dalam 12 jam 15 menit. Pada konsentrasi natrium fenilpiruvat 700 ppm menunjukkan warna hijau yang lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 500 ppm dan warna hijau yang dihasilkan sangat kuat. Warna mulai tampak dalam waktu 8 detik setelah penetesannya natrium fenilpiruvat 700 ppm dan mulai memudar dalam waktu 33 menit serta warna hilang dalam waktu 24 jam. Pada penetesannya natrium fenilpiruvat 1000 ppm warna yang dihasilkan juga sangat kuat, lebih kuat dari 700 ppm. Warna mulai terbentuk pada waktu 7 detik setelah penetesannya natrium fenilpiruvat 1000 ppm dan warna mulai memudar dalam waktu 45 menit serta hilang dalam waktu 2 hari.

Intensitas warna yang dihasilkan tiap plat silika variasi konsentrasi sampel natrium fenilpiruvat pada tabel diatas dapat dilihat pada Tabel sebagai berikut:

Tabel 4.3 Intensitas Warna

Konsentrasi (ppm)	Intensitas Warna
50	-
75	+
100	++
200	+++
300	++++
500	+++++
700	++++++
1000	+++++++

Keterangan: (+) : warna hijau tampak
 (-) : warna hijau tidak tampak

Dari Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi natrium fenilpiruvat maka warna hijau pada plat silika yang dihasilkan semakin tua. Pada

konsentrasi natrium fenilpiruvat 50 ppm plat silika tidak menunjukkan perubahan warna. Pada konsentrasi 75 ppm plat silika menunjukkan perubahan warna yaitu hijau sangat tipis. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi terkecil natrium fenilpiruvat pada pelarut air yang dapat terdeteksi pada plat silika terimmobilisasi reagen identifikasi yaitu 75 ppm.

4.6 Pengujian Plat Silika Terimmobilisasi terhadap Sampel Urin

4.6.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah urin bayi sehat. Urin yang dianalisis adalah urin bayi berusia 3 tahun dan 4 tahun. Pengambilan sampel urin yaitu dilakukan pada pagi hari karena sampel urin yang digunakan pada penelitian ini adalah urin pagi. Tujuan dari digunakannya urin pagi yaitu karena urin pagi lebih pekat sehingga baik untuk pemeriksaan protein. Waktu pengambilan urin bayi dilakukan pada pagi hari sekitar pukul 07.00 WIB. Urin bayi yang akan dianalisis harus dalam keadaan segar, hal ini dikarenakan urin bayi yang terlalu lama didiamkan setelah pengambilan menyebabkan bakteri yang terdapat dalam urin berkembang biak, sehingga diduga dapat mempengaruhi hasil perlakuan terhadap urin. Oleh karena itu sampel urin bayi yang didapat diletakkan dalam botol yang bersih kemudian botol yang berisi sampel urin ditutup rapat.

Tes urin bayi sehat dilakukan dengan metode Fölling, yaitu urin dalam H_2SO_4 ditetesi dengan Ferri amonium sulfat 10 %. Tes Ferri amonium sulfat pada sampel urin bayi digunakan untuk menunjukkan bahwa keadaan bayi sedang tidak menderita penyakit *phenylketonuria*. Hasil positif penderita *phenylketonuria* pada urin bayi saat diuji dengan Ferri amonium sulfat akan mengalami perubahan warna yaitu urin akan berubah menjadi warna hijau yang menandakan pada


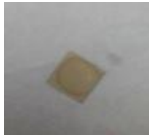

urin bayi tersebut terdapat asam fenilpiruvat berlebih atau di atas kadar normal, sedangkan hasil negatif pada urin bayi saat diuji dengan Ferri amonium sulfat urin tidak mengalami perubahan warna, urin akan tetap berwarna kuning.


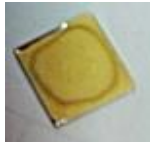
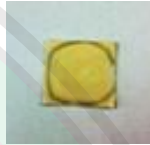


Hasil tes urin bayi dengan uji Ferri amonium sulfat pada penelitian ini didapatkan bahwa kondisi bayi yang digunakan pada penelitian ini sedang tidak menderita *phenylketonuria*. Hal ini dibuktikan dengan hasil warna yang didapatkan ketika urin ditetesi dengan Ferri amonium sulfat 10 % tetap berwarna berwarna kuning. Urin bayi dengan penambahan natrium fenilpiruvat 1000 ppm menunjukkan warna hijau ketika ditetesi dengan Ferri amonium sulfat.

4.6.2 Penentuan Konsentrasi Terkecil Natrium Fenilpiruvat dalam Pelarut Urin yang Dapat Terdeteksi Pada Plat Silika Terimmobilisasi Reagen Identifikasi

Penentuan konsentrasi terkecil natrium fenilpiruvat pada urin dilakukan pada sampel urin A dan urin B. Penentuan konsentrasi terkecil natrium fenilpiruvat dalam sampel urin tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan 4.5.

Tabel 4.4 Variasi konsentrasi natrium fenilpiruvat dalam pelarut urin A

Konsentrasi Natrium fenilpiruvat (ppm)	Waktu respon warna mulai terbentuk	Intensitas warna dalam 5 menit
50	-	 Warna hijau belum tampak
75	52 detik	 Warna hijau sangat tipis
100	47 detik	 Warna hijau tipis

Konsentrasi Natrium fenilpiruvat (ppm)	Waktu respon warna mulai terbentuk	Intensitas warna dalam 5 menit
200	16 detik	 Warna hijau kurang kuat
300	14 detik	 Warna hijau mulai kuat
500	10 detik	 Warna hijau kuat
700	8 detik	 Warna hijau lebih kuat
1000	7 detik	 Warna hijau sangat kuat

Dari Tabel 4.4 dapat diketahui bahwa sampel natrium fenilpiruvat dengan konsentrasi 50 ppm pada pelarut urin A tidak menunjukkan warna hijau pada plat silika gel. Pada penetesan natrium fenilpiruvat dengan konsentrasi 75 ppm plat silika mulai menunjukkan perubahan warna hijau yang sangat tipis sekali, warna mulai tampak dalam 52 detik setelah penetesan natrium fenilpiruvat 75 ppm. Warna mulai pudar dalam 9 menit dan warna hijau hilang dalam waktu 52 menit. Hasil natrium fenilpiruvat dengan konsentrasi 100 ppm menunjukkan warna hijau dan warna mulai tampak dalam waktu 47 detik setelah penetesan natrium fenilpiruvat 100 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 12 menit dan

hilang dalam 1 jam lebih. Hasil natrium fenilpiruvat 200 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 100 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 16 detik setelah penetasan natrium fenilpiruvat 200 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam waktu 28 menit dan hilang dalam 1 jam 25 menit. Hasil natrium fenilpiruvat 300 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 200 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 14 detik setelah penetasan natrium fenilpiruvat 300 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 30 menit lebih dan hilang dalam 2 jam. Hasil natrium fenilpiruvat 500 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 300 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 10 detik setelah penetasan natrium fenilpiruvat 500 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 50 menit lebih dan hilang dalam 18 jam. Hasil natrium fenilpiruvat 700 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 500 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 8 detik setelah penetasan natrium fenilpiruvat 700 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 1 jam dan hilang dalam 24 jam. Hasil penetasan natrium fenilpiruvat 1000 ppm menunjukkan warna hijau sangat jelas dan lebih tua dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 700 ppm. Warna mulai tampak dalam waktu 7 detik setelah penetasan natrium fenilpiruvat 1000 ppm dan warna hijau mulai memudar dalam waktu 1 jam lebih serta warna benar-benar hilang dalam waktu 38 jam.

Tabel 4.5 Variasi konsentrasi natrium fenilpiruvat dalam pelarut urin B

Konsentrasi Natrium fenilpiruvat (ppm)	Waktu respon warna mulai terbentuk	Intensitas warna dalam 5 menit
50	-	 Warna hijau belum tampak
75	50 detik	 Warna hijau sangat tipis
100	43 detik	 Warna hijau tipis
200	15 detik	 Warna hijau kurang kuat
300	12 detik	 Warna hijau mulai kuat
500	11 detik	 Warna hijau kuat
700	7 detik	 Warna hijau lebih kuat
1000	6 detik	 Warna hijau sangat kuat

Pada Tabel 4.5 dapat dilihat bahwa sampel natrium fenilpiruvat dengan konsentrasi 50 ppm pada pelarut urin B menunjukkan warna hijau pada plat silika gel. Pada sampel urin B ini perubahan warna pada plat silika juga ditunjukkan setelah dilakukan penetesannya sampel natrium fenilpiruvat 75 ppm, warna hijau yang dihasilkan juga tipis sekali. Warna mulai tampak dalam waktu 50 detik setelah penetesannya natrium fenilpiruvat 75 ppm. Warna mulai pudar dalam waktu 9 menit serta warna hijau benar-benar hilang dalam 1 jam. Hasil natrium fenilpiruvat 100 ppm menunjukkan warna hijau tipis dan warna mulai tampak dalam waktu 43 detik setelah penetesannya natrium fenilpiruvat 100 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 12 menit dan hilang dalam 1 jam. Hasil natrium fenilpiruvat 200 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 100 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 15 detik setelah penetesannya natrium fenilpiruvat 200 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 36 menit 29 detik dan hilang dalam 5 jam.

Hasil natrium fenilpiruvat 300 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 200 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 12 detik setelah penetesannya natrium fenilpiruvat 300 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 52 menit 4 detik dan hilang dalam 18 jam. Hasil natrium fenilpiruvat 500 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 300 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 11 detik setelah penetesannya natrium fenilpiruvat 500 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 1 jam dan hilang dalam 24 jam. Hasil natrium fenilpiruvat 700 ppm menunjukkan warna hijau lebih jelas dibanding hasil warna dari natrium fenilpiruvat 500 ppm dan warna mulai tampak dalam waktu 7 detik

setelah penetesan natrium fenilpiruvat 700 ppm. Warna hijau terlihat memudar dalam 1 jam lebih dan hilang dalam 24 jam lebih. Hasil penetesan natrium fenilpiruvat 1000 ppm menunjukkan warna hijau sangat tua dan lebih jelas dibanding natrium fenilpiruvat pada konsentrasi 700 ppm. Warna mulai tampak dalam waktu 6 detik setelah penetesan natrium fenilpiruvat 1000 ppm dan warna hijau mulai pudar dalam waktu 2 jam serta warna benar-benar hilang dalam waktu 2 hari lebih.

Intensitas warna yang dihasilkan plat silika setelah dilakukan penetesan natrium fenilpiruvat pada pelarut urin dapat dilihat dalam Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Intensitas Warna

Konsentrasi (ppm)	Intensitas Warna
50	-
75	+
100	++
200	+++
300	++++
500	+++++
700	++++++
1000	+++++++

Keterangan: (+) : warna hijau tampak
 (-) : warna hijau tidak tampak

Dari Tabel 4.6 dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi natrium fenilpiruvat pada pelarut urin baik urin A maupun urin B, maka warna hijau pada plat silika yang dihasilkan semakin tua. Pada konsentrasi natrium fenilpiruvat 50 ppm plat silika tidak menunjukkan perubahan warna. Pada konsentrasi 75 ppm plat silika menunjukkan perubahan warna yaitu hijau sangat tipis. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi terkecil natrium fenilpiruvat pada

pelarut urin yang dapat terdeteksi pada plat silika terimmobilisasi reagen identifikasi yaitu 75 ppm.

4.7 Pandangan Islam Tentang Penelitian Pengaruh Polietilen Glikol terhadap Identifikasi Fenilpiruvat dalam Urin

Berdasarkan hasil penelitian ini, diperoleh bahwa polietilen glikol berpengaruh untuk analisis fenilpiruvat pada urin, yaitu dengan ditunjukkannya warna hijau yang terbentuk pada plat silika gel. Konsentrasi terkecil dari natrium fenilpiruvat yang dapat dideteksi yaitu 100 ppm. Dari hasil penelitian ini pengetahuan dan keyakinan kita akan semakin bertambah terhadap janji Allah SWT bahwa dalam setiap kesulitan pasti ada kemudahan sesuai firman-Nya dalam surat al Insyirah ayat 5-6:

﴿يُسِّرَ الْعُسْرَ مَعَ إِنَّ﴾ يُسِّرَ الْعُسْرَ مَعَ فَإِنَّ

Karena sesungguhnya' sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan (Q.S al Insyirah: 5-6).

Penyakit keturunan merupakan suatu penyakit kelainan genetik yang diwariskan dari orangtua kepada anaknya. Namun ada orangtua yang hanya bertindak sebagai pembawa sifat (carrier) saja dan penyakit ini baru muncul setelah dipicu oleh lingkungan dan gaya hidupnya. Tidak berarti bahwa setiap kelainan genetik tersebut harus bermanifestasi secara nyata dalam silsilah keluarga, tetapi dapat pula tersembunyi hingga terdeteksi oleh faktor dari lingkungan seperti polutan, pola makan yang salah.

Phenylketonuria adalah suatu penyakit keturunan yang disebabkan karena asam amino fenilalanin tidak dapat diubah menjadi tirosin.

Phenylketonuria merupakan salah satu penyakit keturunan yang dibawa oleh pembawa sifat (orang tua), maka perlu dilakukan pendeteksian sejak awal dari kondisi riwayat kedua orang apakah penderita PKU atau *carrier*. Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan pendeteksian penyakit *phenylketonuria* sejak dini dengan mencari metode yang tepat dalam penentuan fenilpiruvat dalam urin yang nantinya dapat diaplikasikan dalam masyarakat umum. Pendeteksian dini penyakit *phenylketonuria* ini merupakan salah satu usaha manusia agar manusia lebih cepat untuk mengetahui seberapa jauh akibat dari penyakit ini. Alangkah lebih baik lagi jika kita dapat mencegah penyakit ini agar penyakit PKU ini dapat diminimalisir. Setiap manusia akan di uji sesuai dengan kemampuan masing-masing, sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al Baqarah ayat 286:

وَسَعَهَا إِلَّا نَفْسًا اللَّهُ يَكْفُلُ لَا

Artinya: Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya (Q.S al Baqarah: 286)

PKU merupakan penyakit yang disebabkan faktor alel resesif autosomal, dimana kedua orang tua yang mempunyai gen abnormal pembawa PKU dapat menurunkan penyakit PKU pada keturunannya. Sudah cukup terbukti bahwasanya makanan ibu sangat berpengaruh terhadap perkembangan genetik janin, selain itu ibu juga harus mengontrol asupan makanan untuk deteksi awal asam amino fenilalanin secara maksimal. Makanan yang digunakan adalah makanan yang halal dan baik bagi pertumbuhan janin. Sebagaimana diriwayatkan dari Abu Hurairah Ra. yang artinya:

“Bahwasanya seorang laki-laki datang menghadap Nabi Saw. dan berkata, “Wahai Rasulullah, anak laki-laki saya lahir (berkulit) hitam.” Nabi Saw. bertanya: “Apakah kamu mempunyai unta?” Ia menjawab: “Ya.” Nabi Saw.

bertanya lagi: “Apa warnanya?” Ia menjawab, “Merah.” Nabi Saw. bertanya lagi: “Apakah ada warna abu-abunya?” Ia menjawab, “Ya.” Nabi Saw. bertanya: “Dari mana itu?” Ia menjawab, “Barangkali ia dipengaruhi gen (moyangnya).” Nabi Saw. berkata: “Barangkali saja (kulit hitam) anakmu ini juga dipengaruhi gen (moyang kamu).”

Jawaban Rasulullah SAW kepada laki-laki itu menunjukkan pencapaian yang luar biasa dalam bidang genetika, melampaui ilmu pengetahuan yang dicapai oleh masyarakat Arab. Hadits di atas merupakan fondasi ilmu genetika yang belum diketahui sebelumnya. Sebab yang dimaksud kata ‘*irq* (gen leluhur) dalam hadits tersebut adalah asal-usul nasab sebagaimana ras buah-buahan, memang keberadaan janin yang memperoleh dan mewarisi sifat-sifat kedua orangtuanya yang berbagi sumbangsih dalam sifat tersebut dengan persentase yang berlainan, merupakan fakta yang dapat disajikan bersama (*empiric*). Dari sini jelas (*magnificence*) kemukjizatan hadits Nabi. Ini merupakan fakta ilmiah yang belum diketahui sepenuhnya kecuali baru pada dekade awal abad ke-20 tepatnya ketika seorang ilmuwan berkebangsaan Swiss bernama Mendel berhasil meletakkan gambaran dasar hukum genetika melalui sejumlah penelitian dan eksperimen yang diujicobakan pada kacang polong (buncis). Ia menyimpulkan bahwa proses penurunan sifat dari suatu generasi ke generasi berikutnya dipengaruhi faktor-faktor yang sangat kecil, yang selanjutnya dikenal dengan nama pembawa sifat turunan atau gen (An-Najjar, 2011).

Allah semata yang memberikan kesembuhan, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam memberikan kesembuhan. Oleh karena itu, wajib bagi kita memiliki keyakinan yang mantap bahwasanya tidak ada yang mampu menyembuhkan kecuali Allah. Keimanan dan keyakinan hanya Allah yang dapat menyembuhkan segala penyakit bukan berarti menjadi penghalang seorang hamba untuk

melakukan pengobatan. Terdapat banyak hadits dari Nabi Saw. tentang perintah untuk berobat dan penyebutan tentang obat-obat yang bermanfaat. Hal tersebut tidaklah bertentangan dengan tawakal seseorang kepada Allah dan keyakinan bahwasanya kesembuhan berasal dari Allah Swt. Sebagaimana telah di jelaskan pada Q.S asy Syu'araa ayat 80:

﴿يَشْفِينِ فَهُوَ مَرَضْتُ وَإِذَا﴾

Artinya: dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku (Q.S asy Syu'araa: 80)

Untuk menuntun manusia dalam mengembangkan dan mengamalkan akal pikirannya, serta mengeluarkan manusia dari kegelapan dan kebodohan, guna kebaikan manusia dan alam sekitarnya, sehingga manusia dapat melaksanakan tugasnya sebagai “khalifah” yang diperintahkan untuk mengelola segala di bumi ini dengan baik. Firman Allah dalam surat al Baqarah ayat 29-30:

﴿مَوَاتٍ سَبْعَ فَسَوْنَهُنَّ السَّمَاءَ إِلَىٰ أَسْتَوَىٰ ثُمَّ جَمِيعًا لِّلْأَرْضِ فِي مَا لَكُمْ خَلْقَ الَّذِي هُوَ
لَقَالُوا خَلِيفَةَ الْأَرْضِ فِي جَاعِلٍ إِنِّي لِلْمَلْتِكَةِ رَبُّكَ قَالَ وَإِذَا ﴿٢٩﴾ عَلِيمٌ شَيْءٍ بِكُلِّ وَهُوَ
أَعْلَمُ إِنِّي قَالَ لَكَ وَنَقَدَسُ مُحَمَّدُكَ نُسِيحٌ وَخُنَّ الدِّمَاءُ وَيَسْفِكُ فِيهَا يُفْسِدُ مَنْ فِيهَا أَتَجَعَّ
﴿٣٠﴾ تَعْلَمُونَ لَا مَا﴾

Artinya:

(29) Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu. (30) Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada Para Malaikat: "Sesungguhnya aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi." mereka berkata: "Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan

darah, Padahal Kami Senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?" Tuhan berfirman: "Sesungguhnya aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui" (QS. Al Baqarah: 29-30)

Perlu diketahui, bahwa Allah menurunkan segala penyakitnya tanpa menjelaskan secara terperinci mengenai jenis penyakitnya dan Allah menurunkan obatnya tanpa menyebutkan detail apa obatnya dan bagaimana memakainya. Masalah ini haruslah dikerjakan oleh manusia dengan akal, ilmu dan penyelidikan yang sekarang dinamai "science" bersama teknologinya. Firman Allah surat al Baqarah ayat 29 – 30, mendukung tentang pentingnya menganalisis *phenylketonuria* untuk mencegah atau meminimalisir penyakit PKU.



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

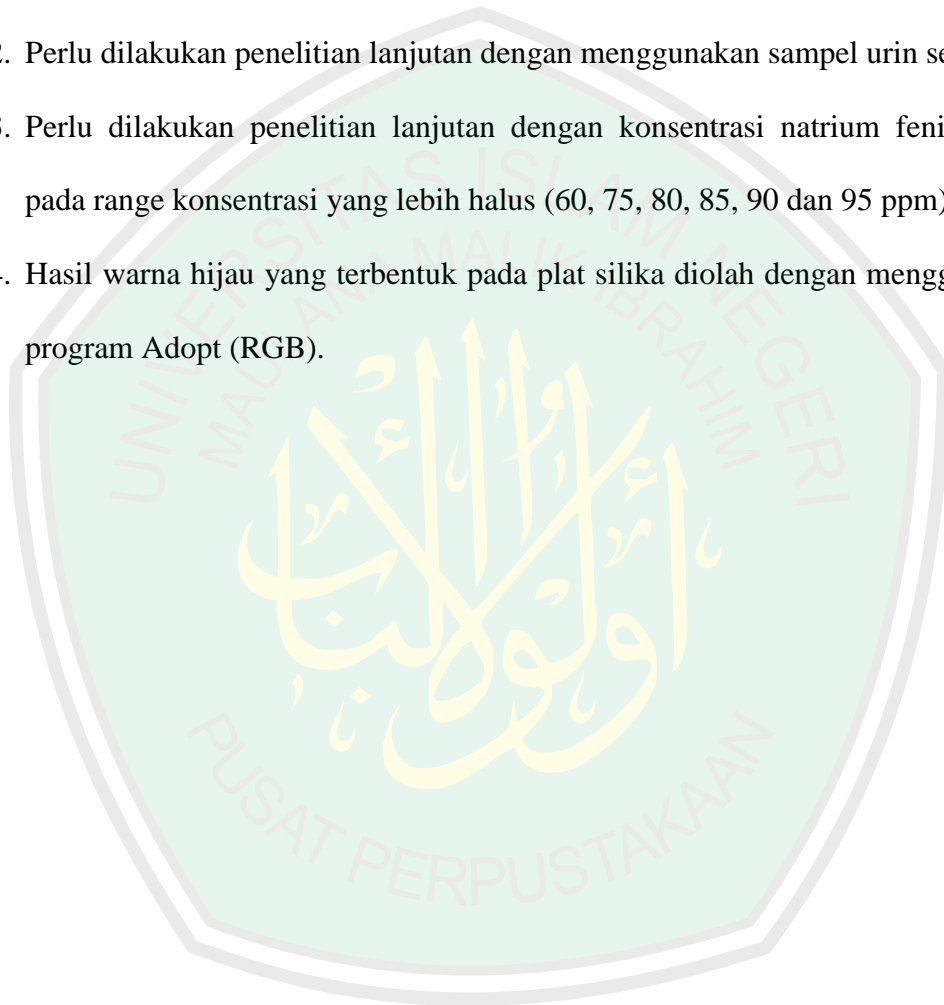
Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Panjang gelombang optimum kompleks Fe-fenilpiruvat adalah 641,0 nm. Konsentrasi optimum Ferri amonium sulfat yang digunakan pada penelitian ini adalah 5000 ppm. Sedangkan konsentrasi optimum Polietilen glikol adalah 500 ppm.
2. Polietilen Glikol (PEG) berpengaruh terhadap kestabilan kompleks Fe-fenilpiruvat, dari hasil analisis data dihasilkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$. F_{hitung} dari hasil perhitungan yaitu 37, sedangkan F_{tabel} yaitu sebesar 3,84 dengan tingkat toleransi 5 %.
3. Hasil identifikasi fenilpiruvat menggunakan plat silika terimmobil reagen identifikasi terbaik adalah menunjukkan warna hijau yang jelas dan stabil cukup lama ketika diteteskan natrium fenilpiruvat 500 ppm. Semakin tinggi konsentrasi fenilpiruvat maka semakin banyak pula fenilpiruvat yang bereaksi dengan Fe^{3+} membentuk kompleks $[Fe(H_2O)_5(PPA)]^{2+}$ yang berwarna hijau, sehingga warna juga akan semakin hijau pekat. Konsentrasi terkecil fenilpiruvat dalam pelarut air yang dapat terdeteksi pada plat silika terimmobil reagen identifikasi adalah 75 ppm.
4. Konsentrasi terkecil fenilpiruvat dalam pelarut urin bayi sehat yang dapat terdeteksi dengan metode plat silika gel terimmobil reagen identifikasi fenilpiruvat menunjukkan hasil yang sama yaitu natrium fenilpiruvat dengan konsentrasi 75 ppm.

5.2 Saran

Disarankan perlu adanya penelitian lanjutan untuk melengkapi dan menyempurnakan penelitian ini sebagai berikut:

1. Plat silika gel terimmobilisasi reagen identifikasi fenilpiruvat perlu diujikan pada bayi yang baru lahir dan terutama pada bayi penderita *phenylketonuria*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan sampel urin sewaktu.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan konsentrasi natrium fenilpiruvat pada range konsentrasi yang lebih halus (60, 75, 80, 85, 90 dan 95 ppm).
4. Hasil warna hijau yang terbentuk pada plat silika diolah dengan menggunakan program Adopt (RGB).



DAFTAR PUSTAKA

- Ali, I. 2008. <http://iqbalali.com/2008/02/10/urinalisis-analisis-kemih/>. Diakses tanggal 03 Oktober 2014
- An-Najar, Z. 2011. *Sains dalam Hadis*. Jakarta: AMZAH
- Anonimous. 2010. *PKU is the Most Common Amino Acid Disorder*. <http://www.disordersinformation.com/2009/10/02/pku-is-the-most-common-amino-acid-disorder/>. Diakses 5 November 2014
- Anonimous. 2011. *Gudanginspirasi.wordpress.com/2011/.../membaca-tes-urine-lengkap*. Diakses tanggal 29 April 2014
- Anonimous. 2012. *\KIT\PEG\Pusat Informasi Farmasi Jenis - Jenis Polietilen Glikol (PEG) dan Kegunaannya..html*. Diakses tanggal 29 April 2014
- Anonimous. 2011. *Teori asam-basa.blogspot.com/2011/toko-ilmu*. Diakses tanggal 03 Februari 2015
- Aryani, F. 2013. *Gangguan Metabolisme*. Bandung: Politeknik Piksi Ganesha
- Bettelheim, A. Frederick dan Landesberg, M. Joseph. 2004. *Laboratory Experiments for General, Organic and Biochemistry Fifth Edition*. Canada: Adelphi University Canada
- Buhani, Narsito, Nuryono. 2009. Hibrida Amino Silika dan Merkapto Silika Sebagai Adsorben untuk Adsorptisi ion Cd(II) Dalam Larutan. *Indo. J.Chem.* Vol. 9 No. 02, 2009:170-176
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri, Cetakan pertama*. Padang: CV. Trianda Anugrah Pratama
- Day, R.A dan Underwood, A.L. 1986. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga
- Deshmukh, S.R., Bushra J. Pathan., S. S. Bhalke., P., Choubey S. 2010. Analysis Of Phenylketonuria (PKU) BY Using Interproscan. *Journalof Advanced Bioinformatics Applications and Research*. Vol 1. h 27-30
- Durham, S.J. dkk. 2008. Knowledge, Compliance and Serum Phenylalanine Concentration in Adolescents and Adults with Phenylketonuria and The Effectc of a Patient-focused Educational Resource. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 21: 474-485

- Eastman, J.W. dkk. 2000. Use of The Phenylalanine: Tyrosine Ratio Test Newborn for Phenylketonuria in a Large public Health Screening Programe. *Journal of Medical Screen*, 7: 131-135
- Effendy. 2010. *Spektroskopi UV/VIS Senyawa Koordinasi*. Malang: FMIPA UM
- Evelyn, C.P. 1973. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Jakarta: PT Gramedia
- Fitriani, W. 2013. Metode Penentuan Fenilpiruvat pada Urine Menggunakan FeCl_3 yang Diimobilisasi pada Plat Silika Gel. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia. Fakultas Saintek. Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang
- Firmansyah. 2012. Metode Immobilisasi Enzim. <http://mcfirmansyah.blogspot.com/2012/04/metode-immobilisasi-enzim.html>. Diakses tanggal 22 November 2014
- Frances K Widman. 1995. *Tinjauan klinis atas hasil pemeriksaan laboratorium*. Jakarta: EGC
- Gandasoebrata, R. 2006. *Penuntun Laboratorium Klinik*. Jakarta: Dian Rakyat
- Gandjar dan Rohman. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Gibbs, K.N. Woolf, I.L. 1959. Test for Phenylketonuria Results of a One-Year Programe for its Detection in Infancy and among Mental Defectives. *British Medical Journal*, 532-535
- Harris, H. 1994. *Dasar-dasar Genetika Biokimia Manusia*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press
- Hartono, dkk. 2002. Penetapan Kadar Kofein dalam Biji Kopi Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Biomedika*, Vol.1(2). Surakarta
- Kalat, J. W. 1984. *Biological Psychology* 2nd edition. California: Wadsworth Publishing Company
- Kaufman, Seymour., dkk. 1975. Phenylketonuria Due to a Deficiency of Dihydropteridine Reductase. *Chemistry*, Vol.293(16)
- Khopkar, S.M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press
- Kiba, N., Itagaki, A and Furusawa, M. 1997. Determination of L-Phenylalanine in Serum by Flow Injection Analysis Using Immobilized Phenylalanine Dehydrogenase and Fluorometric Detection. *Talanta*, 44 (1): 131-134
- Kimball, J.W. 1991. *Biologi Edisi Kelima Jilid 2*. Erlangga: Jakarta

- Kus irtanto dan Kusno waluyo. 2004. *Gizi dan Pola Hidup Sehat*. Bandung: Yrama Widya
- Kusnanto. 2007. Sorpsi Zat Warna Remazol Yellow FG oleh Hydrotalcite like (Mg/Al-HTLc). *Skripsi*. Surakarta: FMIPA UNS Surakarta
- Lee, Hwashim., Park Sangryoul and Lee Gaeho. 2006. Determination of Phenylalanine in Human Serum by Isotope Dilution Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrofotometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 20: 1913-1917
- Lemanska, D.T., Otarzewski, M and Kostyk, E. 2002. Measurement of Phenylalanine in Blood on Filter Paper as Method of Monitoring PKU Treatment. *Journa Medical Screen*, 9: 64-66
- Montgomery, Rex., Conway, W. Thomas dan Spector, A. Arthur. 1993. *Biokimia Berorientasi pada Kasus Klinis*. Jakarta: Bina Rupa Aksara
- Nofemmy, Z. 2014. Pengaruh EDTA (Etilendiamintetraasetat) Sebagai Penghelat FeCl₃ Untuk Analisis Fenilpiruvat Pada Urin. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia. Fakultas Saintek. Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang
- Oscik. 1982. *Adsorption*. England: Ellis Horwood Limited
- Ramadevi, K. 2013. Phenylketonuria (yesterday, today and tomorrow). *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 4(2): (B) 1185-1189.
- Reynolds, T.D., dan Paul A.R. 1995. *Unit Operations And Processes In Environmental Engineering*. Boston: PWS Publishing Company
- Rupe,O. Chauncey dan Free, H. Alfred. 1959. An Improved Test for Phenylketonuria. *Clinical Chemistry*, 5 (5): 405-413
- Roberts, M. 1993. *Biology Princeple and Processes, 1 sted*. Thomas Nelson and Sons Ltd. London
- Rupe, O. Chauncey dan Free, H. Alfred. 1959. *An Improved Test for Phenylketonuria. Clinical Chemistry*, 5 (5): 405-413
- Saifer, Abraham dan Harris, F. Alfred. 1959. *Studies on the Photometric Determination of Phenylpyruvic Acid in Urine. Clinical Chemistry*, 5 (3): 203-217
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta
- Scanlon, Valerie C. dan Tina Sanders. 2000. *Buku Ajar Anatomi dan Fisiologi*. Jakarta: Kedokteran EGC

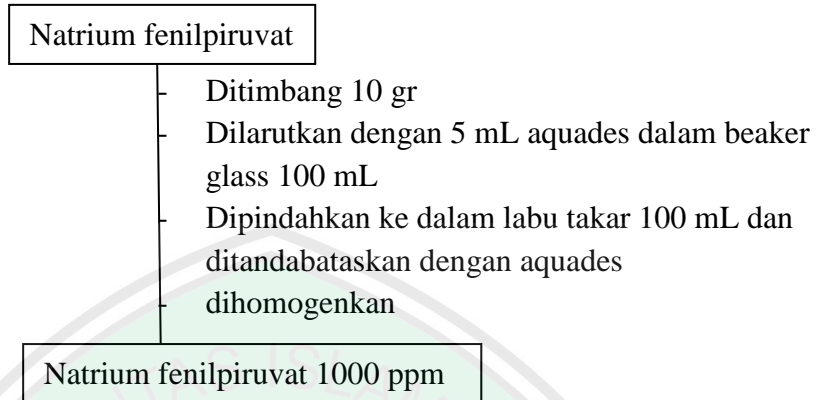
- Setianingrum, M.V. 2011. Peningkatan Fluoresensi pada Komposit Europium Trietilena Glikol Pikrat/Polimetilmetakrilat untuk Aplikasi Fotosensor. *Skripsi*. Jakarta: FT UI Jakarta
- Sharlin, Judith dan Edelstein, Sari. 2010. *Essentials of Life Cycle Nutrition*. New York: David Cella
- Shihabi, Z.K. dan Summer, G.K. 1973. Determination of Serum and Urinary Phenylalanine by Gas Chromatography. *Clinical Chemistry*. 19(5): 496-498
- Sholecha, D.I. dan Kuswandi, B. 2002. Penentuan Cu (II) dalam Sampel Air Secara Spektrofotometri Berbasis Reagen Kering TAR/PVC. *Jurnal Ilmu Dasar FMIPA*. Universitas Jember, volume 3
- Sigma. 2011. Safety Data Sheet Sodium Phenylpyruvate. <http://www.sigma-aldrich.com/sodiumphenylpyruvate.html>. Diakses tanggal 5 Mei 2014.
- Sobotka, Harry dan Stewart C.P. 1963. *Advance in Clinical Chemistry Volume 6*. Amerika: Academic Press Inc
- Soebagio. 2005. *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press
- Solihat, U. 2004. *Analisis Kromatografi Lapis Tipis dan Kromatografi Kertas*. Bandung: Dinas Pendidikan Program Analisis Kimia
- Sukardjo. 1992. *Kimia Koordinasi*. Jakarta: Rineka Cipta
- Suryo. 2005. *Genetika strata I*. Yogyakarta: UGM Press
- Syaifuddin. 2006. *Anatomi Fisiologi Untuk Siswa Perawat*. Jakarta : EGC
- Tagliaro, F. 1994. Capillary Zone Electrophoresis Determination of Phenylalanine in Serum: a Rapid, Inexpensive and Simple Method for The Diagnosis of Phenylketonuria. *Journal Electrophoresis*, 15: 94-7
- Vallian, S. dan Moeni, H. 2006. Quantitative Bacterial Micro-Assay for Rapid Detection of Serum Phenylalanine on Dry Blood-spot: Application in Phenylketonuria Screening. *Clinical Chemistry*, 44(1): 76-9
- Veneziano, M. 2008. *Analytical Methods Development for the Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism*. Napoli Federico: Indirizzo Biotecnologie Mediche Universitas di Napoli Federico II
- Watanabe, Kiyoyuki., dkk. 1997. In situ Determination of Phenylpyruvate in Urine Using a Phenylpyruvate-Selective Membrane Electrode Constructed with a Heptyl-4-trifluoroacetylbenzoate Neutral Carrier. *Analytical Sciences*, 13: 209-212

Lampiran 1: Diagram Alir

1. Preparasi bahan

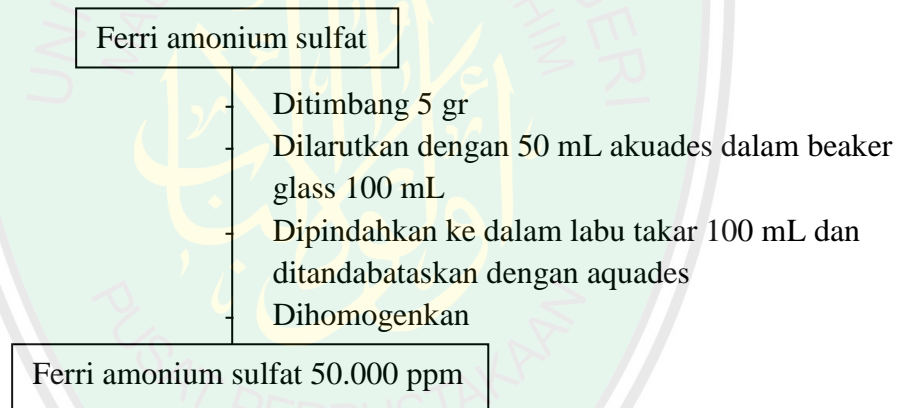
a) Pembuatan Larutan Natrium Fenilpiruvat

- Pembuatan larutan stok Natrium Fenilpiruvat 1000 ppm pada pelarut air.

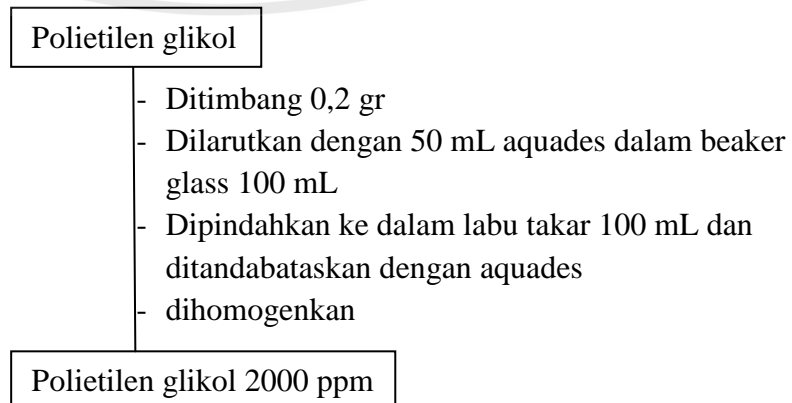


b) Pembuatan reagen identifikasi Fenilpiruvat

- Pembuatan reagen Ferri amonium sulfat



- Pembuatan larutan polietilen glikol



- Pembuatan larutan buffer KCl-HCl pH 2

Larutan KCl

- Ditimbang 2,5 gr
- Dilarutkan dengan 50 mL aquades dalam labu takar 50 mL dan ditandabatkan
- Dihomogenkan
- Larutan yang terbentuk ditetesi larutan HCl 5 % sampai pH larutan berubah menjadi 2

Larutan buffer KCl-HCl pH 2

2. Penentuan Kondisi Optimum Reagen Identifikasi Natrium Fenilpiruvat
 - a) Penentuan panjang gelombang optimum kompleks Fe-Fenilpiruvat (Fe-PP₃)

Ferri amonium sulfat 1000 ppm

- diambil 2 mL ke dalam labu takar 10 mL
- ditambahkan 2 mL reagen polietilen glikol 500 ppm
- ditambahkan larutan buffer KCl-HCl sebanyak 2 mL
- ditambahkan natrium fenilpiruvat 500 ppm
- dihomogenkan
- diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 – 800 nm

Hasil

- b) Penentuan waktu kestabilan kompleks Fe-Fenilpiruvat

Ferri amonium sulfat 1000 ppm

- diambil 2 mL ke dalam labu takar 10 mL
- ditambahkan 2 mL reagen polietilen glikol 500 ppm
- ditambahkan larutan buffer KCl-HCl sebanyak 2 mL
- ditambahkan natrium fenilpiruvat 500 ppm, dihomogenkan
- diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis (1 sampai 15 menit)

Hasil

- c) Penentuan jumlah konsentrasi terbaik reagen Ferri amonium sulfat dengan Fenilpiruvat

Ferri amonium sulfat 1000 ppm

- Diambil 2 mL ke dalam labu takar 10 mL
- Ditambahkan 2 mL reagen polietilen glikol 500 ppm
- Ditambahkan larutan buffer KCl-HCl sebanyak 2 mL
- Ditambahkan 2 mL larutan natrium fenilpiruvat 500 ppm
- Dihomogenkan
- Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada waktu kestabilannya
- Diulangi prosedur dengan konsentrasi ferri amonium sulfat 1000 ppm, 5000 ppm, 7000 ppm, 10000 ppm, 15000 ppm dan 20000 ppm

Hasil

- d) Penentuan jumlah konsentrasi terbaik Polietilen Glikol dengan Fenilpiruvat

Ferri amonium sulfat konsentrasi terbaik

- Diambil 2 mL ke dalam labu takar 10 mL
- Ditambahkan reagen polietilen glikol 50 ppm
- Ditambahkan larutan buffer KCl-HCl sebanyak 2 mL
- Ditambahkan 2 mL larutan natrium fenilpiruvat 500 ppm
- Dihomogenkan
- Diukur absorbansinya pada waktu kestabilannya
- Diulangi prosedur dengan konsentrasi polietilen glikol 100 ppm, 300 ppm, 500 ppm, 700 ppm dan 2000 ppm

Hasil

3. Immobilisasi terbaik reagen FeCl_3 , Polietilen Glikol dan larutan buffer KCl-HCl pada plat silika untuk identifikasi Fenilpiruvat

Reagen identifikasi Fenilpiruvat

Diambil 30 mL
 Diimmobilisasikan ke atas plat KLT ukuran 2 x 2 cm dengan cara direndam selama 30 menit
 Dikeringkan dengan oven pada suhu 35°C selama 10 menit
 Ditetesi plat dengan 1 sampai 3 tetes sampel larutan fenilpiruvat 500 ppm pada pelarut air
 Didiamkan plat KLT sampai warna mulai terbentuk
 Diamati perubahan warna yang terbentuk sampai memudar

Hasil

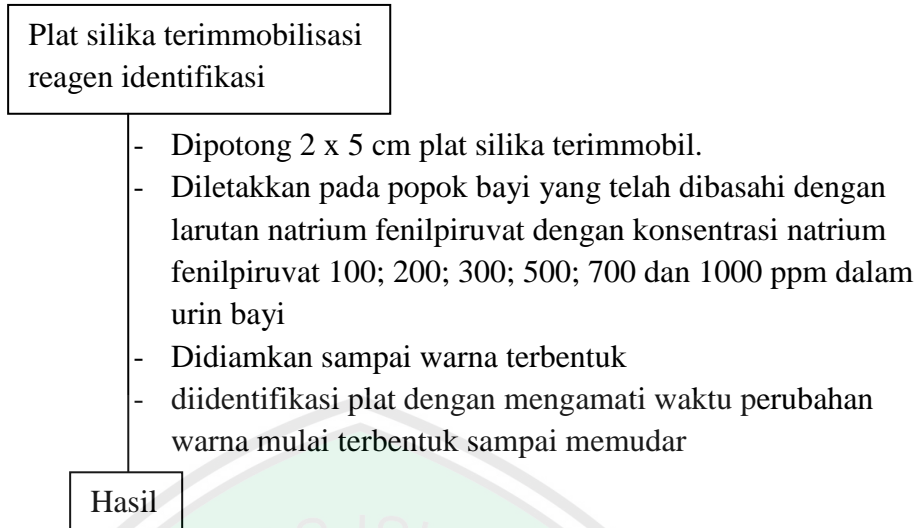
4. Performansi Reagen Identifikasi Fenilpiruvat terhadap Plat Silika

Reagen Identifikasi

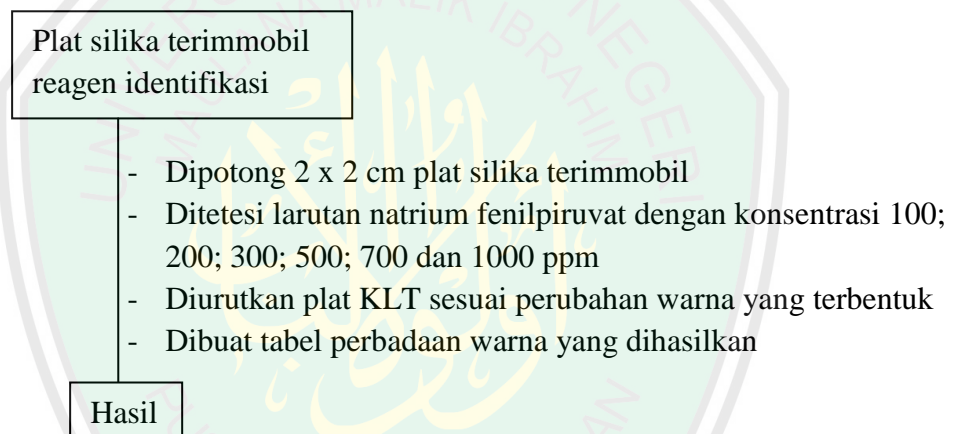
Diambil 30 mL
 Diimmobilisasikan pada plat silika ukuran 2 x 2 cm dan direndam selama 30 menit
 Dikeringkan dengan oven pada suhu 35°C selama 10 menit
 Ditetesi plat dengan setetes sampel natrium fenilpiruvat 100 ppm
 Didiamkan beberapa saat
 Diamati warna yang terbentuk
 Diulangi prosedur dengan konsentrasi larutan natrium fenilpiruvat 200; 300; 500; 700 dan 1000 ppm

Hasil

5. Penentuan konsentrasi terkecil Fenilpiruvat pada sampel



6. Analisis Data



Lampiran 2: Perhitungan

1. Pembuatan larutan natrium fenilpiruvat 1000 ppm

- $$1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{L}$$
$$\frac{1000 \text{ mg}}{L} = \frac{1 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} = \frac{10 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

Jadi cara pembuatannya adalah melarutkan 10 gr natrium fenilpiruvat dalam 100 mL akuades.

- Pembuatan larutan 500 ppm sebanyak 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1}$$
$$= \frac{500 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$
$$= 5 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 100 ppm sebanyak 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$
$$= 1 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 200 ppm sebanyak 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{200 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$
$$= 2 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 300 ppm sebanyak 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{300 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= 3 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 700 ppm sebanyak 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{700 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$= 7 \text{ mL}$$

2. Pembuatan reagen identifikasi fenilpiruvat

a) Pembuatan larutan ferri amonium sulfat

- Pembuatan larutan 20000 ppm dalam 100 mL

$$20000 \text{ ppm} = \frac{20000 \text{ mg}}{L}$$

$$\frac{50 \text{ mg}}{L} = \frac{20 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} = \frac{2 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

- Pembuatan larutan 15000 ppm dalam 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{15000 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{20000 \text{ ppm}}$$

$$= 7,5 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 10000 ppm dalam 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{10000 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{20000 \text{ ppm}}$$

$$= 5 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 5000 ppm dalam 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{5000 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{20000 \text{ ppm}}$$

$$= 2,5 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 1000 ppm dalam 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{1000 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{20000 \text{ ppm}}$$

$$= 0,5 \text{ mL}$$

b) Pembuatan reagen polietilen glikol

- Pembuatan larutan 2000 ppm dalam 100 mL

$$2000 \text{ ppm} = \frac{2000 \text{ mg}}{L}$$

$$\frac{2000 \text{ mg}}{L} = \frac{2 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}} = \frac{0,2 \text{ g}}{100 \text{ mL}}$$

- Pembuatan larutan 700 ppm dalam 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{700 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$= 3,5 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 500 ppm dalam 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{500 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$= 2,5 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 300 ppm dalam 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{300 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$= 1,5 \text{ mL}$$

- Pembuatan larutan 100 ppm dalam 10 mL

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}}{2000 \text{ ppm}}$$

$$= 0,5 \text{ mL}$$

c) Pembuatan buffer KCl-HCl 5 % pH 2

- Pembuatan larutan KCl 5 %

Menimbang 2,5 gr KCl kemudian dilarutkan dalam 50 mL akuades.

$$\text{massa} = \frac{5}{100} \times 50 \text{ mL}$$

$$= 2,5 \text{ gram}$$

- Pembuatan larutan HCl 5 %

Mengencerkan dari larutan HCl 32 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

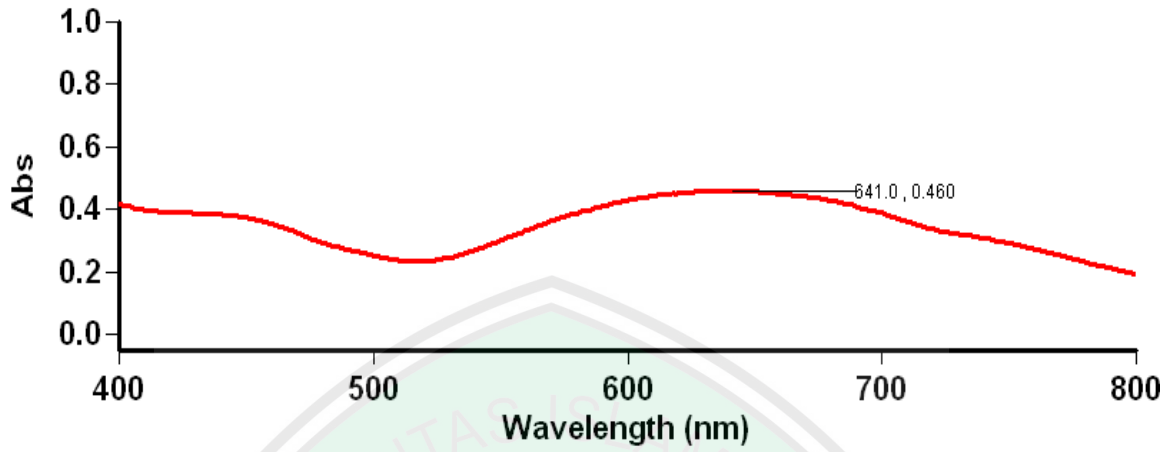
$$V_1 = \frac{M_2 \times V_2}{M_1} = \frac{5 \% \times 10 \text{ ml}}{32 \%}$$

$$= 1,6 \text{ mL}$$

- Pembuatan buffer KCl-HCl pH 2

Larutan KCl 5 % ditetesi dengan larutan HCl 5 % sedikit demi sedikit hingga pH larutan menjadi 2.

Lampiran 3: Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Optimum Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis



Scan Analysis Report

Report Time : Tue 21 Apr 01:32:49 PM 2015

Method:

Batch: D:\Indrayati\Lamdha Maksimum Phenil Piruvat (21-04-2015).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: Phenyl Piruvat

Collection Time 4/21/2015 1:35:01 PM

Peak Table

Peak Style Peaks
 Peak Threshold 0.0100
 Range 800.0nm to 399.9nm

Wavelength (nm)	Abs
641.0	0.460

**Lampiran 4: Hasil Pengukuran Waktu Kestabilan Pembentukan Kompleks
Fe-fenilpiruvat**

Waktu (menit)	Absorbansi
1	0,3136
2	0,4762
3	0,5521
4	0,5828
5	0,5888
6	0,5819
7	0,5673
8	0,544
9	0,5244
10	0,5001
11	0,4765
12	0,4546
13	0,4333
14	0,4113
15	0,3923



Lampiran 5: Konsentrasi Optimum FAS dan PEG

A. Konsentrasi Terbaik Reagen Ferri Amonium Sulfat dalam Pembentukan Kompleks Fe-fenilpiruvat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (1)	Absorbansi (2)	Absorbansi (3)	Absorbansi (Rata-rata)
1000	0,3964	0,4241	0,656	0,4921
5000	0,9746	0,9926	0,8809	0,9493
10000	0,9642	0,8626	0,8191	0,8819
15000	0,8534	0,9088	0,8728	0,8783
20000	0,8677	0,8269	0,8318	0,8421

B. Konsentrasi Optimum Reagen Polietilen Glikol dalam Pembentukan Kompleks Fe-fenilpiruvat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (1)	Absorbansi (2)	Absorbansi (3)	Absorbansi (Rata-rata)
100	0,7525	0,7363	0,7090	0,7326
300	0,8482	0,8607	0,8906	0,8665
500	0,9604	0,9676	0,9217	0,9499
700	0,8321	0,8253	0,8374	0,8316
2000	0,8277	0,8134	0,8055	0,8155

Lampiran 6: Uji Statistika Pengaruh Polietilen Glikol (PEG) terhadap Kompleks Fe-fenilpiruvat

Hasil Absorbansi Pengaruh Polietilen Glikol terhadap Reagen Ferri Amonium Sulfat (FAS) dan Fenilpiruvat

Perlakuan Polietilen glikol	Absorbansi pada FAS Maximum			Jumlah perlakuan	Rataan perlakuan
	ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
100	0,7525	0,7363	0,7090	2,1978	0,7326
300	0,8482	0,8607	0,8906	2,5995	0,8665
500	0,9604	0,9676	0,9217	2,8497	0,9499
700	0,8321	0,8253	0,8374	2,4948	0,8316
2000	0,8277	0,8134	0,8055	2,4466	0,8155
Jumlah ulangan (R)	4,2209	4,2033	4,1642		
Jumlah umum (G)				12,5884	
Rataan umum					4,1961

1. Derajat Bebas (db)

- db umum = $(t.r) - 1 = (5.3) - 1 = 14$
- db ulangan = $r - 1 = 3 - 1 = 2$
- db perlakuan = $t - 1 = 5 - 1 = 4$
- db galat = $(r - 1)(t - 1) = (2)(4) = 8$

2. Jumlah Kuadrat (JK)

$$F.K = \frac{G^2}{r.t} = \frac{(12,5884)^2}{(5)(3)} = 10,565$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ umum} &= \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r x_{ij}^2 - F.K \\
 &= [(0,7525)^2 + (0,7363)^2 + (0,7090)^2 + \dots + (0,8055)^2] - 10,565 \\
 &= 10,643 - 10,565 = 0,078
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ ulangan} &= \frac{\sum_{j=1}^r R_j^2}{t} - F.K \\
 &= \frac{(4,2209)^2 + (4,2033)^2 + (4,1642)^2}{5} - 10,565
 \end{aligned}$$

$$= 10,565 - 10,565 = 0$$

$$\begin{aligned} \text{JK perlakuan} &= \frac{\sum_{i=1}^r T_i^2}{r} - F.K \\ &= \frac{(2,1978)^2 + (2,5995)^2 + (2,8497)^2 + (2,4948)^2 + (2,4466)^2}{3} - \\ &10,565 \\ &= 10,639 - 10,565 = 0,074 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JK umum} - \text{JK ulangan} - \text{JK perlakuan} \\ &= 0,078 - 0 - 0,074 \\ &= 0,004 \end{aligned}$$

3. Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned} \text{KT ulangan} &= \frac{\text{JK ulangan}}{r-1} & \text{KT perlakuan} &= \frac{\text{JK perlakuan}}{5-1} \\ &= \frac{0}{2} = 0 & &= \frac{0,074}{4} = 0,0185 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT galat} &= \frac{\text{JK galat}}{(r-1)(t-1)} \\ &= \frac{0,004}{8} = 0,0005 \end{aligned}$$

4. F hitung

$$\begin{aligned} \text{F perlakuan} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT galat}} \\ &= \frac{0,0185}{0,0005} = 37 \end{aligned}$$

5. Koefisien Keragaman (KK)

$$\begin{aligned} \text{KK} &= \frac{\sqrt{\text{KT galat}}}{\text{rataan umum}} \times 100 \\ &= \frac{\sqrt{0,0005}}{4,1961} \times 100 \\ &= \frac{0,022}{4,1961} \times 100 = 0,00524 \times 100 = 0,5 \% \end{aligned}$$

Tabel sidik ragam (RKL)

Sumber ragam	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel
					5 %
Ulangan	2	0	0		
Perlakuan	4	0,074	0,0185	37	3,84
Galat	8	0,004	0,0005		
Umum	14	0,078			

Jadi perlakuan mempunyai beda nyata karena $F \text{ hitung} > F \text{ tabel}$. Pada taraf nyata 5 % 3,84 dan 9,78 pada taraf nyata 1 %, disimpulkan bahwa percobaan ini berhasil untuk menunjukkan beda nyata diantara keempat perlakuan

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 0,005 &= t\alpha \sqrt{\frac{2s^2}{r}} \\
 &= 2,306 \sqrt{\frac{2.0,0005}{3}} \\
 &= 2,306 \sqrt{0,00033} \\
 &= 2,306 \times 0,018 \\
 &= 0,042
 \end{aligned}$$

3) Plat silika untuk identifikasi fenilpiruvat dalam pelarut air



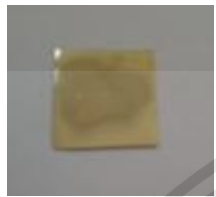
50 ppm



75 ppm



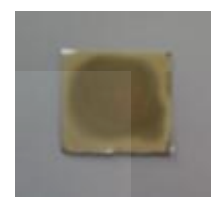
100 ppm



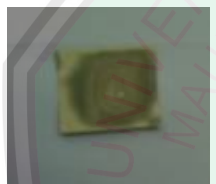
200 ppm



300 ppm



500 ppm



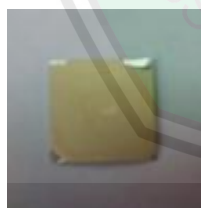
700m



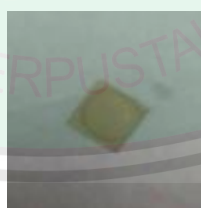
1000 ppm

4) Plat silika untuk identifikasi fenilpiruvat dalam pelarut urin

- Urin A



50 ppm



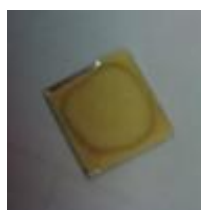
75 ppm



100 ppm



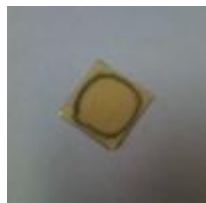
200 ppm



300 ppm



500 ppm



700 ppm



1000 ppm

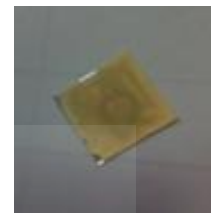
• **Urin B**



50 ppm



75 ppm



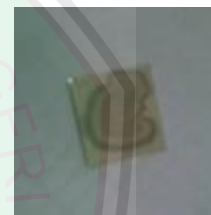
100 ppm



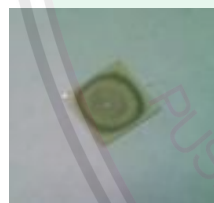
200 ppm



300 ppm



500 ppm



700 ppm



1000 ppm

Lampiran 7: Dokumentasi

1) Variasi Konsentrasi Ferri amonium sulfat



1000 ppm



5000 ppm



10.000 ppm



15.000 ppm



20.000 ppm

2) Variasi Konsentrasi Polietilen glikol



100 ppm



300 ppm



500 ppm



700 ppm



2000 ppm

3) Uji Urin A dan B dalam penambahan larutan standar Natrium fenilpiruvat

